FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1958 N°

THESE 535

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

GERVAIS PIERRE

ANCIEN INTERNE des HOPITAUX de PARIS

Né le 20 Novembre 1926 à PARIS

Présentée et soutenue publiquement le *1958*

LE PROFIL PROTIDIQUE DU LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN

PRESIDENT : Monsieur le Professeur *ALAJOUANINE*

R. VEZIN - 48, rue de la Santé - PARIS XIV°

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552210_0011

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1958 N°

THESE

POUR LE

DOCTORAT EN MEDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

GERVAIS PIERRE

ANCIEN INTERNE des HOPITAUX de PARIS

Né le 20 Novembre 1926 à PARIS

R UNIV BIBLIOTHEEK LEIDEN

Présentée et soutenue publiquement le *1958*

LE PROFIL PROTIDIQUE DU LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN

PRESIDENT : Monsieur le Professeur ***ALAJOUANINE***

R. VEZIN - 48, rue de la Santé - PARIS XIV°

PROFESSEURS HONORAIRES :

BENARD (H.), BROCQ (P.), BULLIARD (H.), CADENAT (F.), CARNOT (P.), CHABROL (Et.), CHAMPY (C.), CHEVASSU (M.), DEBRE (R.), DELBET (P.), DONZELOT (E.), CASTINEL (P.), GUILLAIN (G.), HALPHEN (E.), HARVIER (P.) LAROCHE (G.), LAUBRY (Ch.), LEMAITRE (F.), LEVY-SOLAL (E.), LHERMITE (J.) LIAN (C.), LOEPER (M.), MARION (G.), MATHIEU (P.), MOCQUOT (P.), MONDOR (H.), MULON (P.), OLIVIER (E.), RICHET (Ch.), SANNIE (Ch.), SEZARY (A.), TANON (L.), VELTER (E).

Doyen : ..... Léon BINET
Membre de l'Institut

Assesseur : ..... Jean VERNE.

I.- PROFESSEURS

Anatomie		CORDIER (G.)
Anatomie Pathologique		DELARUE (E.)
Bactériologie		FASQUELLE (R.)
Biochimie Médicale		JAYLE (M.F.)
Biologie appliquée à l'Educ. Phy. et Sports		CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie Médicale		FAUVERT (R.)
Cancérologie Médicale et sociale		BERNARD (J.)
Clinique de cardiologie		MOUQUIN (M.)
Cliniques Chirurgicales	Beaujon	SICARD (A.)
	Cochin	QUENU (J.)
	Hôtel-Dieu	MENEGAUX (C.)
	Salpêtrière	MOULONGUET (P.)
Clinique Chirurg. réparatrice et orthopédique		MERLE D'AUBIGNE (R.)
Clinique de Chirurgie cardio-vasculaire		de GAUDART-d'ALLAINES (F.)
Clinique de Chirurg. infantile et orthopédie		FEVRE (M.)
Clinique de Chirurgie pleuro-pulmonaire		MATHEY (J.)
Clinique gynécologique		FUNCK-BRENTANO (P.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques		DECOS (R.)
Clinique des maladies des enfants		CATHALA (J.)
Clinique des maladies infectieuses		MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale		DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques		HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang		MARCHAL
Clinique des maladies du système nerveux		ALAJOUANINE (T.)
Cliniques Médicales	Bichat	JUSTIN-BESANCON (L.)
	Broussais	DE GENNES (L.)
	Cochin	MOREAU (R.)
	Hôtel-Dieu	BARIETY (M.)
Clinique Méd. d'Hydro-climatologie thérapeutique		DEBRAY (C.)
Clinique Médicale propédeutique		PASTEUR VALLERY-RADOT (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition		BOULIN (R.)
Clinique de neuro-chirurgie		PETIT-DUTAILLIS (D.)
Cliniques Obstétricales	Baudelocque	LACOMME (M.)
	Port-Royal	VARANGOT (J.)

ique d'Obstétrique et de gynécologie	LANTUEJOUL (P.)
ique Ophtalmologique	RENARD (G.)
ique oto-rhino-laryngologique	AUBIN (A.)
ique de pneumo-phtisiologie	BERNARD (E.)
ique psychiatrique infantile	HEUYER (G.)
ique de puériculture	LELONG (M.)
ique rhumatologique médicale et sociale	COSTE (F.)
ique stomatologique	DECHAUME (M.)
ique thérapeutique chirurgicale	SENEQUE (J.)
ique thérapeutique médicale	LEMAIRE (A.)
ique urologique	FEY (B.)
yologie	GIROUD (A.)
tique médicale	LAMY (M.)
oire de la médecine et de la chirurgie	SOULIE (P.)
ologie	VERNE (J.)
ène et clinique de la première enfance	TURPIN (R.)
ène et médecine préventive	JOANNON (C.)
cine légale	PIEDELIEVRE (R.)
cine du travail	DESOILLE (H.)
sitologie et histoire naturelle médicale	GALLIARD (H.)
ologie Chirurgicale	COUVELAIRE (R.)
ologie exotique	LAVIER (G.)
ologie expérimentale et comparée	LENEGRE (J.)
ologie humorale et immunologie expérimentale (chaire à titre personnel)	MERKLEN (F.)
ologie médicale	DECOURT (J.)
ologie et thérapeutique générales	GARCIN (J.)
iatrie sociale	MARIE (J.)
rmacologie et matière médicale	HAZARD (R.)
sico-chimie médicale (chaire à titre personnel)	DOGNON (A.)
siologie	BINET (L.)
sique médicale	STROHL (A.)
iologie médicale	DESCREZ (H.)
hnique chirurgicale	PATEL (J.)
rapeutique	BROUET (G.)

II.- PROFESSEURS SANS CHAIRE
MAITRES de CONFERENCES-AGREGES et AGREGES

tomie	DELMAS (A.) pr s.ch. CABROL (C.) DEBEYRE (J.) OLIVIER (G.)
tomie Pathologique	GAUTHIER-VILLARD MlleP. pr.s.ch. BUSSER (F.) GOUYGOU (Ch.)
étériologie	NEVOT (A.) pr.s.ch. CHRISTOL (D.)
ochimie médicale	ETTORI (J.) pr.s.ch. DESCREZ (P.) POLONOVSKI (J.) SCHAPIRA (R.)

iologie Médicale	BOURLIERE (F.)
ermato-syphiligraphie	DUPERRAT (F.)
mbryologie	TUCHMANN-DUPLESSIS (H.)
	COUJARD (F.
istologie	N. ...
	N. ...
ydrologie	CORNET (A.)
ygiène	BOYER (J.) pr.s.ch.
	DEPARIS (M.) pr.s.ch.
aladies Infectieuses	BASTIN (R.)
	DEROBERT (L.) pr.s.ch.
édecine légale	GAULTIER (M.)
	HADENGUE (A.)
édecine du travail	ALBAHARY (G.)
euro-chirurgie	DAVID (M.)
eurologie	LHERMITTE (F.)
	GRASSET (J.)
	LE LORIER (G.)
	LEPAGE (F.)
bstétrique	MERGER (P.)
	MORIN (P.)
	RAVINA (J.)
	ROBEY (M.)
	BREGEAT (P.)
phtalmologie	DESVIGNES (P.)
rthopédie	JUDET (R.)
	AUBRY (M.)
to-rhino-laryngologie	MADURO (R.)
	BRUMPT (L.G.)
arasitologie	CHABAUD (A.)
	ABOULKER (P.)
	BARGAT (J.)
	BAUMANN (J.)
	CAUCHOIX (J.)
	DUBOST (C.)
	FAUREL (J.)
	FLABEAU (F.)
	GERMAIN (A.)
athologie chirurgicale	GOSSET (J.)
	LAURENCE (G.)
	LORTAT-JACOB (J.)
	MATHEY (J.)
	OLIVIER (Cl.)
	POILLEUX (F.)
	THOMERET (G.)
	VERNE (J.M.)
	LOEPER (J.)
athologie expérimentale	MAURICE (P.)

Pathologie médicale	BOUDIN (G.) BOUVIER (J.B.) BRICAIRE (H.) BRISSAUD (H.) CASTAIGNE (P.) CONTE (M.) DEROT (M.) DOMART (A.) LAMOTTE (M.) LAROCHE (C.P.) MAGREZ (C.) MILLIEZ (P.) PEQUIGNOT (H.) PERRAULT (M.) RAMBERT (P.) ROYER (P.) THIEFFRY (St.) TURIAF (J.) WOLFROMM (R.) N ...
Pédiatrie	JOSEPH (R.) MOZZICONACCI (P.) POLONOVSKY (Cl.)
Pharmacologie	CHEYNOL (J.) pr.s.ch. LEVY (Mlle J.) pr.s.ch.
Physiologie	BARJETON (D.) pr.s.ch. PARROT (J.) pr.s.ch. DEJOURS (P.)
Physique Médicale	DJOURND (A.) pr.s.ch. GOUGEROT (L.)
Pneumo-Phtisiologie	KREIS (B.)
Psychiatrie	PICHOT (P.)
Psychiatrie infantile	MICHAUX (L.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.)
Stomatologie	CERNEA (P.) CHAPUT (Mme A.)
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.)
Urologie	KUSS (R.)

III.- PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES CHARGES de COURS de CLINIQUE ANNEXE à titre permanent

Clinique chirurgicale	AMELINE (A.) HUGUIER (J.) LEGER (L.) PADOVANI (P.) ROUX (M.)
Clinique médicale	DREYFUS (Gilbert) HACUENAU (J.) pr.s.ch. KOURILSKY (R.) MARCHAL (G.)
Clinique neurologique	DE SEZE (S.)
Clinique obstétricale	MAYER (M.)
Clinique ophtalmologique	OFFRET (G.)
Clinique pédiatrique	LAPLANE (R.)
Clinique psychiatrique	BARUK (H.)

==========

Secrétaire général de la Faculté ..... M. MOREL (J.)
Secrétaire ..... Mlle CHAINTREUIL (C.)

Conservateur, chargé de la direction .... M. le Dr. HAHN(A.)
Conservateur ..... Mlle GOICHON (A.)
Bibliothécaires ..... Mlles DUMAITRE (P.)
LAURENT (H.), LE NOIR (G.), QUIEVREUX (E.)

Par délibération en date du 9 Décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PERE,

A MA MERE,

En témoignage de ma profonde
affection.

A MES BEAUX-PARENTS,

A MA FEMME,

A MES ENFANTS,

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS.

Au Professeur Th. A L A J O U A N I N E

Professeur de Clinique des Maladies du Système Nerveux

Médecin de la Salpêtrière

Membre de l'Académie de Médecine

Officier de la Légion d'Honneur,

Qui m'a fait l'Honneur d'accepter
la présidence de cette thèse.

Au DOCTEUR P.E. F O U R N I E R

Médecin-Assistant de la Salpêtrière

Agrégé de l'Université,

Qui m'a suggéré le sujet de cette thèse et accordé son aide et ses encouragements.

Au DOCTEUR J. B A D I N

Qui m'a reçu dans son laboratoire du Centre d'Exploration Fonctionnelle de la Fédération Mutualiste de la Seine et m'a guidé de ses conseils.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX :

Externat :

Monsieur le Professeur R. MERLE d'AUBIGNE

Monsieur le Professeur Agrégé M. DEPARIS

Monsieur le Professeur P. LAMTUEJOUL

Monsieur le Professeur J. DECOURT

Monsieur le Docteur A. LAMBLING

Monsieur le Professeur J. CATHALA

Monsieur le Docteur A. TZANCK (in Mémoriam)

Internat :

Monsieur le Professeur G. MARCHAL

Monsieur le Professeur R. TURPIN

Monsieur le Professeur Agrégé R. LAPLANE

Monsieur le Professeur J. BERNARD

Monsieur le Professeur M. LAMY

Monsieur le Docteur A. GROSSIORD

Monsieur le Professeur Th. ALAJOUANINE

Monsieur le Docteur A. LAPORTE.

Monsieur le Professeur R. BOULIN

Qu'ils soient assurés de ma très vive reconnaissance pour l'enseignement qu'ils m'ont donné et de mon respectueux attachement.

SOMMAIRE

INTRODUCTION 1

• PREMIERE PARTIE :

I - Rappel de quelques conditions anatomiques et physiologiques de la constitution du L.C.R. 4

BIBLIOGRAPHIE 11

II - Revue critique des méthodes électrophorétiques . 19

BIBLIOGRAPHIE 29

III - Méthodes de floculation - Signification 35

BIBLIOGRAPHIE 50

• DEUXIEME PARTIE :

I - Dosages classiques des protéines du L.C.R..... 55

BIBLIOGRAPHIE 63

II - Nouvelles méthodes de dosage des diverses fractions 66

- Gammaglobulines 67

BIBLIOGRAPHIE 101

- Glycoprotéines 74

BIBLIOGRAPHIE 105

- Lipoprotéines 82

BIBLIOGRAPHIE 109

. Protéines et barrière hémo-cérébrale. 97

CONCLUSIONS 113

INTRODUCTION

Les protéines du liquide céphalo-rachidien sont très peu abondantes si on les compare à celles du sérum : les études qualitatives ont été très longtemps limitées aux réactions de floculation dont le type est la réaction du Benjoin colloïdal . Des techniques de séparation de la sérine et de la globuline avaient bien montré que l'élévation de cette dernière correspondait à la floculation des premiers tubes (zone dite paralytique) mais les tests de floculation restaient en pratique les plus sensibles .

L'apparition des méthodes électrophorétiques a permis de confirmer l'hétérogénéité des protéines du liquide céphalo-rachidien , mais il s'avère qu'en particulier l'électrophorèse sur papier n'a pu dépasser en sensibilité les réactions de floculation . Nous verrons , cependant, comment elles ont éclairé la signification de ces dernières .

Au cours des dernières années sont apparues les techniques de précipitation spécifique des diverses classes de protéines et un certain nombre d'entre elles ont été appliquées au Liquide céphalo-rachidien .

Il semble dès maintenant utile de reprendre ce problème et d'envisager quelles applications cliniques pourraient avoir ces diverses méthodes .

- Parmi les protéines du Liquide céphalo-rachidien, nous considérons seulement celles qui ont une importance pondérale dans le sérum :

  - Albumine
  - Gammaglobulines
  - Glycoprotéines
  - Lipoprotéines .

- Nous n'étudierons pas les protéines connues surtout par leur

activité biologique :

- Enzymes, facteurs de coagulation, Hormones protéiques
- Constituant du complément
- Protéines porteuses de métal (Sidérophiline),

Associant quelques recherches personnelles et l'ensemble des travaux portant sur ce point, nous voudrions discuter la possibilité d'établir un profil protidique du Liquide céphalo-rachidien au sens donné par M.F. JAYLE à ce terme, dans l'analyse du Sérum .

PREMIÈRE PARTIE

PREMIÈRE PARTIE

- I -

RAPPEL de QUELQUES CONDITIONS ANATOMIQUES et PHYSIOLOGIQUES DE LA CONSTITUTION DU LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN

La grande différence de concentration en protéines dans le Liquide lombaire (30 mg pour 100 ml) et surtout dans le liquide ventriculaire (10 mg) par rapport à cette concentration dans le sérum (7000 mg) fait partie d'un ensemble de différences multiples qui ressortent du tableau suivant où la 2-me colonne contient les divers rapports entre les concentrations sériques et liquidiennes .

MILLIGRAMMES pour 100 ml

	Plasma	Plasma / Liq.Lombaire	Liq. lombaire	Liquide ventriculaire
Cholestérol	238	1500	0,15	
Protéines	7000	233	30	10
Acides aminés	50	33	1,6	
SO_4	1	2	0,5	
Calcium	10	2	5	
Glucose	100	1,6	60	100
PO_4H	3	1,5	2	
Potassium	20	1,5	15	
Urée	25	1	25	
Sodium	325	1	325	
Chlore	335	0,75	425	
Magnésium	2	0,6	3,3	

Ces multiples différences résultant des fonctions d'une entité anatomique et physiologique complexe appelée : la Barrière Hémo-cérébrale .

Il importe d'en dessiner les principaux caractères.

NOTIONS ANATOMIQUES

- FRONTIERES MENINGEES du L.C.R.

FRONTIERES HEMO-LIQUIDIENNES

Le liquide céphalo-rachidien est séparé du sang par trois groupes de formations distinctes :

- Les plexus choroïdes où les vaisseaux sont doublés ,non seulement par la pie-mère, mais par l'épithélium aux cellules cubiques d'aspect secrétoire, en relation directe avec le liquide ventriculaire : nous verrons que la composition protéique de ce liquide est très particulière .

- Les vaisseaux piémériens ; où aucune formation d'aspect secrétoire ne double la paroi méningée et vasculaire : ces vaisseaux sont plus abondants au contact du liquide péri-cérébral que dans le secteur rachidien .

- Les granulations de Pacchioni constituent des formations spécialisées qui donnent une large surface de contact entre les espaces sous-arachnoïdiens et la circulation veineuse des sinus crâniens.

- Le liquide céphalo-rachidien est d'autre part en liaison avec le système lymphatique principalement par les gaînes neurales : au-delà de leur orifice osseux les nerfs crâniens et rachidiens sont entourés de tissu conjonctif d'où partent les vaisseaux lymphatiques: les terminaisons arachnoïdiennes des gaînes neurales semblent avoir d'étroites relations de voisinage avec les lymphatiques péricraniens et périvertébraux .

EMBRYOLOGIE .-

Rappelons que les formations proprement méningées sont d'origine mésenchymateuse et proches du système réticulo-endothélial alors que les épithéliums choroïdiens sont d'origine neuro-ectodermiques et font partie du système glial.

FRONTIERES CEREBRO-LIQUIDIENNES

L'aspect méningé de la barrière hémo-cérébrale comprend en réalité une deuxième formation que l'on peut appeler la barrière cérébro-liquidienne .

La surface du parenchyme est séparée du Liquide céphalo-rachidien par la lame pioglíale.

Les vaisseaux qui pénètrent dans le parenchyme avec la lame restent entourés par un espace péri-vasculaire en continuité avec les espaces sous-arachnoïdiens . (espaces de Virchow-Robin). Cet espace semble simplement limité par un feutrage arachnoïdien en contact avec le vaisseau et par le feuillet invaginé de la pie-mère (Woollam et Millen) .

Pour la plupart des auteurs l'espace péri-vasculaire se termine avant la capillarisation du vaisseau soit par un cul-de-sac , soit en perdant seulement la séparation entre les feuillets qui le constituent (Mott - Schaltenbrandt) .

- BARRIERE HEMO-CEREBRALE PROPREMENT DITE :

A ce point où les vaisseaux se capillarisent dans le parenchyme nerveux ,nous quittons les frontières du Liquide céphalo-rachidien pour étudier la partie cérébrale profonde de la barrière hémo-cérébrale .

Le point essentiel acquis récemment est , qu'à ce niveau , la fonction de protection cérébrale semble reposer sur l'intégrité d'une véritable gaîne de substance fondamentale péri-vasculaire , faite de mucopolysaccharides normalement colorables par le réactif de Schiff à l'acide périodique (Hess).

Cette gaîne polysaccharidique continue sépare tous les vaisseaux parenchymateux des formations gliales , de la myéline et des neurones .

NOTIONS PHYSIOLOGIQUES RECENTES

L'utilisation des isotopes radioactifs a considérablement développé les connaissances sur les échanges au travers des divers éléments de la barrière hémo-cérébrale .

- Les METABOLITES de FAIBLE POIDS MOLECULAIRE :

L'ensemble des travaux récents apporte cette notion que la constitution chimique du liquide céphalo-rachidien résulte , non seulement des modalités de sécrétion - réabsorption par les plexus choroïdes, les vaisseaux pie-mériens, les corpuscules de Pacchioni, mais également des échanges extrêmement actifs avec le parenchyme cérébral . Ceci a été étudié pour les diverses substances suivantes qui sont en plus faible quantité dans le Liquide céphalo-rachidien que dans le plasma :

- Acides aminés (Friebberg cité par Krüh)
- Glucose (Baltch et Osborne)
- Phosphates (Bakay)
- Potassium (Bering)

Acides aminés et phosphates pénètrent d'autre part beaucoup plus rapidement dans le parenchyme après administration dans le Liquide céphalo-rachidien qu'après injection intraveineuse .

- Les P R O T E I N E S :

La différence de concentration entre les protéines du sérum et du Liquide céphalo-rachidien s'expliquent plus directement par cette notion de barrière hémocérébrale .

L'albumine marquée par l'iode radioactif est ainsi retenue dans l'espace vasculaire par la barrière hémocérébrale normale des vaisseaux parenchymateux (Bering, Rodzilsky) . Elle pénètre dans le Liquide céphalo-rachidien plus lentement que les électrolytes .

Les protéines marquées disparaissent très rapidement de l'espace sous-arachnoïdien crânien, plus lentement des ventri-

cules et encore plus lentement de l'espace sous-arachnoïdien lombaire. (Sweet).

La différence entre le taux de calcium du Liquide céphalo-rachidien et celui du sérum est due au défaut de passage du calcium fixé aux protéines : on dose en réalité dans le Liquide céphalo-rachidien le calcium diffusible (Soulier) .

Cependant l'intimité des rapports entre le Liquide céphalo-rachidien et le parenchyme nerveux doit faire envisager l'intervention dans les caractéristiques des protéines du Liquide céphalo-rachidien non seulement les fonctions de la barrière hémocérébrale, mais aussi le métabolisme de l'arc nerveux lui-même à l'état normal ou pathologique .

Les histologistes classiques ont décrit l'existence d'une prise en charge par les éléments névrogliques et les macrophages des débris cellulaires et des produits du catabolisme de la myéline : la voie d'évacuation serait l'ensemble des espaces périvasculaires vers les espaces sous-arachnoïdiens .

Les études enzymologiques récentes ont montré l'existence dans le Liquide céphalo-rachidien d'enzymes spécifiques et de modifications en rapport avec des lésions parenchymateuses (Saifer)(Green).

Nous aurons donc à discuter la possibilité de modifications des protéines du Liquide céphalo-rachidien en liaison avec des processus pathologiques intéressant les centres nerveux .

Il paraît utile de rappeler quelques notions sur la constitution biochimique de ces centres .

NOTIONS de BIOCHIMIE CEREBRALE

Deux types de substances sont assez bien connues, au moins en ce qui concerne leur partie non protidique :

- Les lipoprotéines de la myéline
- Les glycoprotéines périvasculaires .

- La MYELINE :

Elle est présente autour de toute fibre nerveuse, plus abondante dans les régions dites myélinisées. Les lipides myéliniques sont complétés avec du cholestérol libre et alternent autour des fibres nerveuses avec des molécules protidiques auxquelles elles sont liées (Edgar).

Le tableau suivant schématise la constitution des divers lipides du Système nerveux : leur caractère commun est la présence ,dans leur molécule, d'acides ou d'aldéhydes gras de poids moléculaire élevé .(Cf tableau page 10)

- Les GLYCOPROTEINES CEREBRALES :

Elles sont représentées par la substance colorable par le réactif de Schiff -acide périodique située autour des vaisseaux : il s'agit de polysaccharides azotés ,liés à des protéines, analogues à ceux de toute substance fondamentale .

On sait que l'injection de Bleu trypan ,par voie intraveineuse colore, chez l'animal, l'ensemble des tissus à l'exception du parenchyme cérébral. De même l'albumine iodée radioactive ne pénètre pas le parenchyme .

Cette barrière est absente chez le foetus et n'apparaît qu'en harmonie avec la maturation neurologique .

Elle disparaît à la suite de la plupart des agressions (mécaniques, thermiques, inflammatoires).

Il est apparu (Hess) que dans tous les cas l'intégrité de la barrière hémocérébrale profonde était liée à la présence de la gaine polysaccharidique des vaisseaux .

CONSTITUTION des LIPIDES MYELINIQUES

d'après EDGAR

GLYCO-SPHINGOSIDES	- GANGLIOSIDE	- Galactose - Hexosamine - Acide Neuraminique	- SPHINGOSINE	- Acide GRAS		SPHINGOLIPIDES
	- CEREBROSIDE	- Galactose	- SPHINGOSINE	- Acide GRAS		
PHOSPHO-SPHINGOSIDES	- SPHINGOMYELINE	- Phosphorylcholine	- SPHINGOSINE	- Acide GRAS	PHOSPHATIDES	
	- CEPHALINE B	- Phosphoryl - ? -	- SPHINGOSINE	- Acide GRAS		
	- LECITHINE	- Phosphorylcholine	- GLYCEROL	- Acide GRAS		GLYCEROL-PHOSPHOLIPIDES
	- CEPHALINE	- Phosphoryléthanolamine - Sérine ou Inositol	- GLYCEROL	- Acide GRAS		
	- ACETAL-PHOSPHO-LIPIDE	- Phosphoryléthanolamine	- GLYCEROL	- Aldéhyde GRAS		

BIBLIOGRAPHIE

ADAMS J.E.

Tracer Studies with P 32

J. Neurobiol. 1951 - 8 - 279

ALAJOUANINE, THUREL, DURUPT

Liquide céphalique et rachidien

Ann. de Médecine 1948 - 49

ALAJOUANINE Th., THUREL, DURUPT L.

Données nouvelles sur le liquide céphalo-rachidien. Liquide céphalique et rachidien

Rapp. Ier Congrès Int. Biol. Clinique 1947

Exp. Sc. Fr. PARIS 1948

ARONSON S.M., SAIFER R.A., KANOF A. and VOLK B.W.

Progression of A momrotic Family Idiocy as reflected by serum and cerebrospinal fluid changes

Am. J. of Medecine 1958 - 24, 390

BAKAY L.

The blood - brain - Barrier

Ch.C.THOMAS Springfield 1955

BALTCH A., OSBORNE W.

Inquiry into causes of lowered spinal fluid sugar content : in vivo and in vitro observations.

J. Lab. Clin. Med. 1957- 49 - 882

BERING Jr E.

Water Exchang in the brain and cerebrospinal fluid studies on the intraventricular instillation of Denterum

Journ. Neurosurg. 1954 - 11 - 234

BERING E.A.

Studies on the role of the choroïd in tracer exchanges between blood and cerebro-spinal fluid

J. Neurosurg. 1955 - 12 - 213

BERTRAM S., ROBINSON C.V., BENDA Ph.

The source of human cerebrospinal fluid

A Study of the dynamic state of its constituents

IV° Congrès Neurologique International, LISBONNE 1953 - Vol.2

BLASS J. et LAUGIER S.

Les acides aminés dans le liquide céphalo-rachidien normal.

Sem. Hôp. Suppl. Arch. Soc. Franç. Biol. Med. 1955 - 39 - 198

BRANCA et VERNE

Précis d'Histologie

MASSON Ed. PARIS 1942

BROMANT

The possibilities of the passage of substances from the blood to the central nervous system

Acta Psychiat. 1941 - 16 - 1

BROMANT

The permeability of the cerebro spinal vessels in normal and pathological conditions

E. Munksgaard Forlag 1949

CAMPANINI T.

La Sostanza fondamentale del systema nervose centrale; suoi rapporti con la barriera emato encephalica

Sistema Nerv. MILANO 1956 - 8 (3) 176

CHAVANY J.A. et MESSIMY R.

L'Hémiplégie récidivante in situ dans la sclé - rose en plaques.

Presse Médicale 1958 - 66 - 531

COSS Paul

Physiopathologie du système nerveux

MASSON Ed. PARIS, 1950, 152 sq.

EDGAR G.W.F.

Neurochemistry of demyelinating diseasis

in VI° Congrès International de Neurologie

Acta Medica Belgica ed. BRUXELLES

ELKELES A.

Experiments on the Existence of a Blood, Advenal Cortex Barrier

Lancet 1954, II, 1153

FRIEDEMANN U.

Further investigation on the blood brain barrier

J. Immunol. 1937 - 32 - 97

GREENBERG D.M., AIRD R.B., BOELTER M.D., CAMPBELL W.W., COHN W.E. MURAYAMA M.M.

A study with radioactive isotope of the permeability of the blood cerebrospinal fluid Barrier to ions

Am. J. Physiol. 1943 - 140 - 47

HASSIN G.B.

Crebro-spinal Fluid

Its Origin, Nature and fonction

J. Neuropath. 1948 - 7 : 172

HESS A.

Blood Brain Barrier and Ground Substance of Central nervous System

A.M.A. Arch. Nerv. Psychol. 1955 - 73 - 380

JAYLE M.F.

Données nouvelles sur l'analyse des proteines plasmatiques en clinique

Sem. Hop. PARIS 1954 - 30 - 4159

JAYLE M.F., LEVY R., CAMUS J.P., COUMEL M., BETOURNE Cl. et BADIN J.

Les tests d'écran de la formule protéique dans l'examen général du malade

Rev. Prat. 1957 - 7 - 529

JAYLE M.F., SCHAPIRA

Précis de Chimie physiologique et séméiologique

MASSON Ed. PARIS 1956

JEFFERSON M.

Cholinesterase activity of Cerebro-spinal fluid (compéraison with its protein contents)

Clinical Sc. 1954 - 13 - 599

KATZENELBOGEN S.

The cerebrospinal fluid and its relation to the blood

John Hopkins Press BALTIMORE 1935

J.KRUN

La biosynthèse des proteines. Aspects actuels du problème

Rev.Franç. et études cliniques et biologiques 1957 - 2 - 820

LUPS S. and HAAN A.M.F.H.

The Cerebro Spinal Fluid

ELSEVIR Publ., AMSTERDAM, 1954

MERRIT H.M. and FREMONT SMITH F.

The Cerebrospinal fluid

W.B. SAUNDERS Comp. PHILADELPHIA 1938

MESTREZAT W.

Le liquide céphalo-rachidien normal et pathologique

A.MALOINE, PARIS, 1912

MILLER L.L. and BALE W.F.

Synthesis of all plasma protein exept gamma globulin by the liver

J. Exp. Med. 1954 - 99 - 125 et 133

OROSZ A.

Radioactive isotope studies of the connection between the lymph circulation of the nasal mucosa, the cranial cavity and the cerebro spinal fluid

Acta Physiol. BUDAPEST 1957 - 11 - 75

PAULETZ, MARSOZ H., COQ H.

Cholinesterase et perméabilité de la barrière hémato-encéphalique

J. Physiol. PAR. 1957 - 49 (1) - 342

RISER

Le liquide céphalo-rachidien et la physiologie ventriculo-méningée

Biol. Med. 1936 n°9 p.575

ROZDILSKY B., OLSZEWSKI J.

Permeability of cerebral blood vessels studied by radioactive iodinated bovin albumin

Neurology 1957 - 7 (4) - 270

SCHALTENBRAND G.

Normal and Pathological physiologie of the cerebrospinal fluid circulation

Lancet 1953 - 1 - 805

SOULIER J.P., CROSNIER J.

Nouvelle méthode de dosage du Calcium ionisé utilisant un système coagulant

Presse Médicale 1958 - 66 - 825

SPIEGEL A.M.

Cerebrospinal fluid.Rewiew.

Progr. Neurol. Psychiat.

N.Y .1956. 11. 145

SUNDELIN F.

Cerebrospinal fluid in rheumatoïd arthritis

Am. J. Med. 1947 - 2 - 579

SWEET W.H., BROVNELL G.L., SCHOLL J.A., BOWSHER D.R., BENDA P. and STICKLEYE E.

The formation, flow and absorbtion of cerebrospinal fluid, newer concept based of studies with isotopes

Ass. Res. Nerv. Ment. Dis. 1955 - 34 - 101

Proc . Soc. exp. Biol. N.Y. 1953 - 84 - 397

WANG J.

Penetration of radioactive sodium and chlorid into cerebrospinal fluid and Aqueous Humor

J.Gen.Physiol. 1948 - 31 - 259

WEED L.H.

Certain anatomical and physiological aspects of the meninges and cerebrospinal fluid

Brain 1935 58 383

WOLSTENHOLME G.E.W. and O'CONNOR C.M.

The cerebrospinal fluid, Production, circulation and absorption

CIBA Foundation Symposium

CHURCHILL Ed. LONDON 1958

WOOLLAM D.H.M. and J.W. MILLEN

Observation on the production and circulation of the cerebro-spinal fluid

CIBA Foundation Symposium

J. & A. CHURCHILL L.T.D. LONDON 1958

ZAND N.

Les plexus choroïdes

MASSON Ed. PARIS 1930

ZETTERHOLM S.

Blood Spinal Fluid Permeability to bromide in closed Head injuries

Acta Psych. Neur. Suppl. XLV - 1947

PREMIÈRE PARTIE

- II -

REVUE CRITIQUE

des

MÉTHODES ÉLECTROPHORÉTIQUES

PROBLEMES TECHNIQUES

Depuis les travaux de KABAT, LANDOW et MOORE publiés en 1942, les études électrophorétiques des protéines du Liquide céphalo-rachidien ont été reprises par de nombreux auteurs .

PROCEDES de CONCENTRATION :

Le fait frappant est la très grande variété de techniques utilisées afin d'obtenir une concentration suffisante de protéines dans l'échantillon utilisé .

Il s'agit ,rappelons-le, de concentrer le liquide céphalo-rachidien 100 à 200 fois ,afin d'obtenir un liquide contenant un taux de protéines se rapprochant de celui du sérum .

Les principales méthodes employées sont les suivantes : (Wunderly)

- Précipitation (Bücher , Roboz) : les protéines sont précipitées par l'acétone réfrigéré ,puis remises en solution dans une faible quantité de liquide .

- Ultrafiltration : les filtres en verre d'Iéna permettent de concentrer les solutions de protéines .

- Lyophilisation : après élimination du chlorure de sodium par dialyse . Cette méthode dénature les lipoprotéines (Roupert) .

- Dialyse : c'est la technique la plus commode et la plus fidèle .

- BAUDOIN et Coll. utilisent la dialyse combinée à la centrifugation .

- SMITH et Coll., SCHNEIDER et coll. utilisent la dialyse sous pression .

- WINDERLY, CUNNING, CASPARIN conseillent également de concentrer le Liquide céphalo-rachidien par dialyse.Ils introduisent le li uide dans un récipient à paroi de cellophane et font dialyser contre une solution concentrée de Dextrane. Ils obtiennent ainsi une concentration suffisante en 20 à 72 heures .

Cette technique permet d'autre part de modifier la composition ionique et d'ajuster le pH du Liquide céphalo-rachidien : il suffit de mettre à l'extérieur du sac de dialyse un échangeur d'ion convenable ou des solutions tampon adaptées .

En fait, les confrontations entre les méthodes d'électrophorèse et les méthodes de référence , telles l'ultracentrifugation (Frantzen) montrent que tous les procédés de concentration altèrent de façon variable les diverses protéines et exposent au risque de la disparition ou de la diminution de telle ou telle d'entre elles .

D'autre part la nécessité de la concentration des protéines contraint de partir d'une grande quantité de Liquide céphalo-rachidien (20 cm3) ce qui limite évidemment la possibilité d'utilisation clinique .

- PROCEDES de DEVELOPPEMENT et de LECTURE :

- Les protéines sont le plus souvent mises en migration sur le papier , la coloration peut révéler les protéines, les glucides ou les lipides (Baudoin et Coll., Smith et coll. Bauer, Rossi).

- Quelques auteurs ont utilisé l'électrophorèse en phase libre avec l'appareil de Tiselius ,les résultats sont assez différents de ceux obtenus avec l'électrophorèse sur papier (Zenyu Takata) .

- Enfin, après électrophorèse sur gélose , il est possible de réaliser comme sur le sérum une révélation immunologique des diverses protéines selon la méthode de Grabar et Williams (Gravilesco) .

RESULTATS

Le tableau suivant donne les principaux résultats obtenus grâce à l'électrophorèse par les différents auteurs :

		FRACTION	ALBUMINES	GLOBULINES α_1	α_2	β	γ	γ	
	ROSSI & SCHNEIDER Klin-Wschr. 1953-32-969		54,2-65	10 à 15,6		15-23		5,6-14	Electrophorèse sur papier
	GRIES Klin.Wschr. 1953-31-664	4,3	51,3	5,8	8,4	17,1	6,8	6,3	Electrophorèse sur papier
	PLASMA		55,4-72,9	1,4 4,4	3,5 9,5	8,6 12,6		13-22	App. de Tiselius
	PLASMA		60	11,8		12,1	Fibrinog.	11,1	App. de Tiselius
L.C.R.	ZENRYN TANAKA 1956	1,5	52,8	7,3		15,9		23,6	App. de Tiselius

- DIFFERENCES QUANTITATIVES :

Ces chiffres appellent diverses remarques :

1.- Les écarts entre les divers auteurs et pour une technique donnée entre les résultats considérés comme normaux sont relativement importants .

2.- Le profil électrophorétique est analogue à celui du sérum, mais proportionnellement :

a.- Le Liquide céphalo-rachidien contient moins de globulines gamma que le sérum ,surtout si l'on tient compte des résultats de l'électrophorèse sur papier .

b.- Il contient par contre plus de β globulines que le sérum .

c.- Il contient peut-être également une plus forte proportion de globulines α .

La plupart des auteurs ne distinguent qu'un seul pic ces deux derniers groupes de globulines .

d.- La proportion d'Albumine est semblable à celle du plasma ou légérement plus faible ,contrairement aux notions classiques .

- Les PROTEINES DITES SPECIFIQUES du L.C.R.

Deux protéines apparaissent, qui ne sont pas décrites sur les électrophorèses sériques :

- LA FRACTION RAPIDE

qui précède l'albumine, elle est appelée fraction V (Bücher) ou X (Kabat) ou encore préalbumine ou préfraction (Hoch , Booig, Fisk) .

Elle est relativement plus abondante dans le liquide ventriculaire, voici les proportions données par BAUER :

Liquide ventriculaire	15,4 %
Liquide cisternal	4,5 %
Liquide lombaire	2,9 %
Liquide obtenu après encéphalographie gazeuse	3,9 %

Cette préfraction existe en fait dans le sérum en faible proportion ; elle a fait l'objet de travaux tres récents (Azerad et coll.)

La richesse du liquide ventriculaire en cette protéine traduit une activité sélective remarquable des plexus et est à rapprocher des propriétés métaboliques particulières de cette préfraction (Azerad)

- LA FRACTION τ

Cette fraction qui a reçu des noms divers (fraction δ - S) migre entre les β globulines et les γ globulines (certains la décrivent comme un dédoublement du pic des β - globulines) . Sa nature, la protéine correspondant éventuellement dans le sérum sont inconnues .

On ne la retrouve d'ailleurs pas à l'électrophorèse en phase libre (Zenyu Tanaka) elle est peut-être alors confondue avec les gamma globulines, dont le taux apparaît ainsi plus élevé .

Pour PRESS il s'agirait d'une protéine particulière dont la sédimentation est très lente à l'ultracentrifugation et qui n'est pas précipitée par le sulfate de sodium à 18 % .

- GLUCIDOGRAMME et LIPIDOGRAMME :

Ces méthodes donnent une idée de la répartition des glycoprotéines et des lipoprotéines parmi les protéines, mais ne peuvent donner de résultats quantitatifs suffisamment précis pour être exprimés en chiffres valables (Smith et coll.)

1.- GLYCOPROTEINES (Bauer) (Rossi)

Comme dans le sérum, les glycoprotéines migrent dans le domaine des α_1 , α_2 et β globulines . Les glycoprotéines β semblent particulièrement abondantes dans le Liquide céphalo-rachidien, alors que c'est le type α qui prédomine dans le sérum .

L'albumine du Liquide céphalo-rachidien paraît plus riche en glucides que celle du sérum .

2.- LIPOPROTEINES (Bauer , Baudoin , Smith, Rossi) .

On sait que le sérum contient deux fractions principales migrant l'une avec les α globulines , l'autre avec les β globulines .

Les divers auteurs s'accordent pour signaler à ce point de vue une différence fondamentale entre les deux humeurs : le Liquide céphalo-rachidien ne contient pas en quantité décelable par le lipidogramme de β lipoprotéine .

Nous reviendrons longuement sur ce point .

L'albumine d'autre part ne transporte pas de lipide dans le Liquide céphalo-rachidien normal .

- IMMUNOELECTROPHORESE :

La révélation immunologique de l'électrophorèse sur gélose par un sérum anti-humain selon la technique de Grabar et Williams entraîne la formation de 16 à 18 lignes , dont chacune correspond à une protéine homogène sur le plan antigénique .

Il convient de rappeler la nomenclature

spéciale à cette technique, on décrit ainsi : (Scheidegger)

- Une préalbumine ou fraction ρ (Rô)
- Une 2ème préalbumine , c'est en réalité l' α -lipoprotéine qui sur gélose migre plus rapidement que l'albumine .
- L'Albumine
- 3 α_1 globulines :
  = glycoprotéine α_1
  = Bilirubine α_1 globuline
  = Lipoprotéine β (en effet cette protéine migre également plus rapidement sur gélose que sur le papier).
- 5 α_2 globulines dont :
  = la Glycoprotéine α_2 (Haptoglobine)
  = la coeruléoplasmine
  = une macroglobuline dite α_2 M
- 2 β_1 globulines :
  = Englobuline
  = Sidérophiline
- 3 β_2 globulines dites : . β_2 A
  . β_2 B
  . β_2 M (macroglobuline)
- Enfin, les γ globulines sont marquées par une courbe qui s'étend largement vers les globulines plus rapides.

L'application de l'analyse immunoélectrophorétique aux liquides céphalo-rachidiens normaux révèle un point majeur : il existe dans cette humeur une dizaine de composés identiques sur le plan immunologique avec ceux du sérum (Gravilesco et coll.)

Les proportions relatives de ces divers constituants ne corr spondent pas à celles du sérum :

- Il existe un constituant, ρ plus rapide que l'albumine, relativement plus abondant dans le Liquide céphalo-rachidien que dans le sérum .

- Les globulines γ ont une migration lente et leur concentration est faible .

- Les globulines β_2 par contre sont abondantes et présentent deux maxima de concentration : ce point est à rapprocher de l'existence d'une fraction τ à l'électrophorèse sur papier .

- Enfin, certaines globulines β_1 et α semblent manquer (rappelons que sur les lipidogrammes la lipoprotéine β est absente du Liquide céphalo-rachidien).

L'immunoélectrophorèse précise donc et confirme les résultats de l'électrophorèse sur papier : il reste à identifier les protéines absentes du Liquide céphalo-rachidien, celles qui paraissent plus abondantes dans cette humeur que dans le sérum .

On ne peut encore affirmer qu'il existe dans le Liquide céphalo-rachidien une protéine absente du sérum .

RENSEIGNEMENTS FOURNIS PAR l'ELECTROPHORESE dans les DIVERS ETATS PATHOLOGIQUES

Nous ne pouvons rapporter l'ensemble des résultats observés par les différents auteurs, d'autant que nous en rappellerons les principaux à propos des méthodes analytiques intéressant les diverses fractions globuliniques .

Il faut cependant signaler l'existence de trois types d'anomalies (Van Sande, Wallemins , Cunnings , Lafon , Bauer)

1.- Tantôt le profil électrophorétique du L.C.R. se rapproche plus ou moins de celui du sérum :

c'est le cas :

- des méningites à germes figurés (Wallenius)
- des compressions médullaires dont le liquide lombaire ressemble d'autant plus au sérum que la compression est plus basse (Karcher) .
- de certaines tumeurs cérébrales d'origine vasculaire (Hémangioblastome décrit par Cunnings).

Dans ces cas, l'élévation du taux des protéines est généralement très importante : l'exemple en est réalisé dans le syndrôme de Froin.

2.- Tantôt il existe une élévation plus marquée de certaines fractions globuliniques :

associée d'ailleurs à une élévation des protéines totales beaucoup plus discrète que dans le cas précédent . Généralement on ne trouve pas dans le sérum d'élévation de la globuline correspondante .

a.- Aussi les γ globulines sont élevées (Bauer)

- dans la sclérose en plaques, la leucoencéphalite sclérosante subaiguë et dans la panencéphalite de Pette DÖRING
- dans la syphilis nerveuse , en particulier dans la paralysie générale ;
- dans l'encéphalite ourlienne (Wallenius)

b.- L'élévation isolée des β globulines est observée par Cunings dans certaines tumeurs malignes ;

c.- Les α globulines sont augmentées dans l'artériosclérose cérébrale (Karcher) ce syndrome comporte également une élévation discrète des β -globulines .

3.- Dans certains cas enfin une anomalie sérique

très marquée se reflète dans le Liquide céphalo-rachidien sans qu'il existe de lésion neuro-méningée (élévation des α globulines dans les infections aiguës, dysglobulinie des myélomes (Karcher) (Madomick)

CONCLUSIONS

SUR les ETUDES ELECTROPHORETIQUES

1.- Elles ont montré la complexité des protides du Liquide céphalo-rachidien et l'existence de certaines différences avec celles du sérum . Elles ne révèlent pas certaines différences qualitatives fort importantes .

2.- Leurs résultats restent fréquemment perturbés par les diverses techniques de concentration, qui entraînent la perte ou la dénaturation de l'une ou l'autre des protéines .

3.- Elles nécessitent une assez grande quantité de Liquide céphalo-rachidien, ce qui est un obstacle à leur utilisation courante .

4.- Les résultats quantitatifs sont très insuffisants, surtout en ce qui concerne le lipidogramme et le glucidogramme. Même en ce qui concerne les taux de Gammaglobulines, l'électrophorèse est moins sensible que la réaction du Benjoin colloïdal ,puisqu'elle ne révèle guère plus de 45 % d'hypergammaglobulinorachie dans la sclérose en plaques . (Bauer).

BIBLIOGRAPHIE

AZERAD E., LEWIN J., GATHA J.

Prealbumin fractions in normal and pathological Sera

in Protides of the biological fluids

ELSEVIER Pub.CO.AMSTERDAM 1958

BAUER H.

Zur Frage der Identitat der liguor protein mit den EiweissKörpen des Blut Serum

1° Besonderheiten der Liquor proteine hinsiditlicht des Vorfrakion, der Globulin γ un des proteinge bundenen lipide

Deut. ZtSchrift f.Nervenheilkunde 1956 - 179 - 354

BAUER M.

2'Die proteingebundenen Kohlenhydrate des Liquors

ibid. Deut. Zeitj Nerv 1957 - 175 - 488

BAUER H.

3 Die Mucoproteine des Liquors

ibid. D. Z. f. N. 1957 - 176 - 126

BOOIJ J.

Electrophorosis in cerebrospinal fluid protein.The signifiance of the γ globuline fraction.

Fol. Psychiat. Neurol. and Neurochir. neerl. 1952 - 55 - 137

BOOIJ. J. The electrophoretic pattern of the cerebrospinal fluid in 4de Colloq. Sint-Sans Hospitaal,BRUUGGE 1956 - BRUGGE St Jang Hospitaal

BOOIJ J.

Pre Albumin in the cerebrospinal fluid

Progress in Neurobiology AMSTERDAM, 1956, n°2, 164

BÜCHER T., MATZELT D., PETTE D.

Papier electrophoreses von Liquor Cerebrospinalis

Klin. Wschnschr.1952, 30 - 325

CUMINGS E.

Examination of the cerebrospinal fluid by paper electrophoresis

J. Neurol. Neurosurg. and Psych. 1953 - 16 - 152

CUVELLIER R., BERGER J.A., TRONCHE P. et CHAGNAUD J.

Sur l'étude des proteines du liquide céphalo-rachidien par la microélectrophorèse sur papier

Le Rachiproteinogramme.

Ann. Biol. Clin. 1954 - 12 - 389

DELANK H.W.

Der liquor cerebro-spinals bei den Sogenannten Hernatrophien

Fortsch. New Psychiat. 1957 - 25 - 355

FISK A.A., CHANUTIN A. and KLING MAN W.O.

Observations on a rapidly migrating electrophoretic component of Cerebrospinal fluid

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1951 - 78 - 1

FRANTZEN E., FRANTZEN A., DJURTOPF., FOG T.

Investigation of the protein fraction in the cerebro spinal fluid by ultracentrifugal analysis

Danish Med. Bull. 1954, 1, 49

CRAVILESCO K., COURJON J., HILLION P., URIEL J., LEWIN J. GRABAR P.

Etude du L.C.R. humain normal par la méthode immunoélectrophorétique

Bull. Soc. Chim. Biol. Fr., 1955, 37, 803

HAVEZ R.

Possibilités et limites de l'électrophorèse sur papier dans l'étude desmilieux biologiques humains

Thèse LILLE 1957, Médecine

HOCH H., CHANUTIN A.

Electrophorèse studies in cerebrospinal fluid

Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 1952 - 81 - 628

KABAT E.A., LANDOW M. and MOORE D.M.

Electrophoretic Pattern of concentrated cerebro spinal fluid

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1942 - 49 - 260

KABAT E.A., MOORE D.M., LANDON H.

An Electrophoretic studies of protein components in cerebrospinal fluid and their relationship to the serum proteins

J.Clin. Invest. 1942 - 21 - 571

KARCHER D., LOWENTHAL A., VAN SANDE M.

L'origine des proteines du liquide céphalo-rachidien

in Protides of the Biological fluids

ELSEVIER Pub. Cv. AMSTERDAM 1958

LAFON R. MONNIER P. et MOVIELLE J.

L'électrophorèse couplée des protides du liquide céphalo-rachidien et du sérum (150 Obs.)

Rev. Neurol. 1956-95, 69

MACHEBOEUF M., REBEYROTTE P., DUBERT J.M., BRUNERIE M.

Microélectrophorèse sur papier

Expans. Scient. Ed. PARIS

Memento Scientifique

Document. GEIGY BALE 1956

MUMENTHALER M. und MARKI S.H.

Veber die Liquor elektrophorese : Methodits und Klinische Anwendung

Klin. Wschr. Berhn 1957 - 35 - 1

ROBOZ E., HESS W.C. and TEMPLE O.

Paper Electrophoretic estimation of proteins on cerebrospinal fluid

J.Lab. and Clin. Med. 1954, 43, 785

ROBOZ E., TEMPLE D.M.

Paper electrophoretic Studies in multiple sclerosis

Neurology, 1954, 4, 811

ROMDINI B., MALOSSI M.

Electrophoretic Study of serum and cerebrospinal fluid proteins in Heine Medin disease

Clin. Pediat. 1954 - 36 - 821

ROUPERT G.E.

Electrophorese des proteines du liquide céphalo-rachidien

Thèse Méd. STRASBOURG 1956, n°2, Impr.

SAIFER A., RABINER A.M., ORESKES B.S. et VOLK B.W.

Electrophoretic and chemical serum protein fractions in multiple sclerosis

Am.J.Med.Sc. 1953 - 225 - 287

SCHEIDEGGER J.J.

L'analyse Immuno - électrophorétique

Bull. Soc. Chim. Biol. 1957 - 39 - 45 Suppl.I

SCHNEIDER G., WALLENIUS G.

Electrophoretic Studies on cerebrospinal fluid proteins

Scandinav.J. Clin. Lab. Invest. 1951 - 3 - 145

TANAKA ZEMYU

Electrophoretic Study of cerebrospinal fluid components

TOHOKU J. of exper. Med. TOKYO

- Survey in normal liquid 1956 - 63 - 245
- Survey in anormal liquor 1956 - 64 - 189

VAN SANDE M., LOWENTHAL A., KARCHER D.

Intérêt clinique des électrophorésigrammes des proteines du liquide céphalorachidien

Acta Neurol. et Psychiat. Belg. 1957 - 57 - 523

VAN SANDE M., KARCHER D. et LÖVENTHAL A.

Examens électrophorétiques des protéines du serum et du liquide céphalo-rachidien chez des patients atteints de sclérose en plaques

Acta Neur. et Psychiat. Belg. 1957 - 57 - 407

VAN WYMEERSCH H., LOWENTHAL A., VAN SANDE M., Melle KARCHER D.

Examens par microélectrophorèse sur papier des protéines du serum et du liquide céphalo-rachidien dans trois cas de leuco-encéphalite sclérosante subaigüe

Presse Médicale 1957 - 65 - 1457

WALLENIUS G.

Electrophoretic pattern of cerebro-spinal fluid and serum compared in normal and pathological conditions

Acta Soc. Med. Upsalien 1952 - 57 - 138

WUNDERLY Ch.

Electrophorese sur papier

VIGOT Frères Ed. PARIS 1956

PREMIÈRE PARTIE

- III -

METHODES de FLOCULATION

Signification

MÉTHODES DE FLOCULATION CLASSIQUE

REACTIONS de NONNE APPELT et de PANDY

Elles sont très peu spécifiques :

- toute augmentation du taux des protéines totales les rend positives (Lups, Bullock) .
- Dans un cas d'agammaglobulinémie avec hyperprotéinorachie dépourvue de toute gammaglobuline , ces réactions ont été trouvées positives (Antonacci) .
- Inversement, elles peuvent être négatives alors que le taux des gammaglobulines est élevé (Delay et coll.)

REACTIONS du BENJOIN COLLOIDAL et de l'OR COLLOIDAL

- TECHNIQUE et LECTURE :

Ces réactions font partie d'un groupe de tests dont le principe est le suivant :

Le Liquide céphalo-rachidien est ajouté à une solution colloïdale de pH ajusté; la dilution du Liquide céphalo-rachidien est croissante dans une série de tubes contenant une quantité égale de solution colloïdale .

Les constantes sont choisies de telle sorte qu'il n'y ait pas de floculation (Or) ou qu'elle ait lieu seulement dans deux tubes de dilution moyenne (Benjoin colloïdal) ,en présence de Liquide céphalo-rachidien normal .

- On sait que la floculation dans les premiers tubes, où le Liquide céphalo-rachidien est peu dilué s'observe dans les syphilis neuro-méningées, dans la sclérose en plaques,et aussi dans certaines

parasitoses neurologiques (Cysticercose, Trypanosomiase)

- La floculation dans les derniers tubes, zone méningitique, s'observe en particulier dans la méningite tuberculeuse .

- EXPLICATION BIOCHIMIQUE et SPECIFICITE de ces REACTIONS :

-DONNEES CLASSIQUES (Demanche)

1.- Toute protéine en solution à concentration optimum a une propriété spécifique d'empêcher la floculation par les sels d'une certaine quantité de particules en suspension colloïdale (Indice d'or de Zsigmondy) .

2.- Ce pouvoir protecteur est limité à une zone précise de concentration des protéines caractéristique de chacune d'entre elles; en dehors d'elle la précipitation est au contraire favorisée . DOGNON a montré que l'effet de la dilution des protéines s'expliquait , dans une certaine mesure , par unevariation de pH: l'addition des protéines à la solution colloïdale de pH acide, entraîne une augmentation de ce pH d'autant plus importante qu'elles sont plus concentrées et plus basiques .

BORIN a d'ailleurs mis au point une technique d'ajustage du pH de la solution de Benjoin colloïdal par adjonction d'acide benzoïque à 0,20 g.p.100 jusqu'à pH 4,2 .

On conçoit dans ces conditions que si une dilution correctement choisie du Liquide céphalo-rachidien est ajoutée à une suspension colloïdale , de pH adapté, les mélanges de protéines peuvent donner des précipitations caractéristiques : les points isoélectriques des diverses fractions étant différents la neutralisation de la suspension colloïdale et sa précipitation dépendra des proportions du mélange de protéines .

- TENTATIVES d'EXPLORATION de l'EFFET des DIVERSES FRACTIONS PROTEIQUES :

LANGÉ au cours d'une longue série de travaux a exploré les conditions de positivité de la réaction à l'or

colloïdal .

1.- Il insiste sur le caractère très spécifique de la courbe dite en plateau de la paralysie générale qui traduit une dégénérescence parenchymateuse extensive .

Il attribue ce type de courbe à une pseudo-globuline spéciale : aucun mélange de globuline et d'albumine ne permet d'obtenir une telle courbe . Cette floculation est d'ailleurs individualisée par le fait qu'elle peut se produire en l'absence d'électrolytes .

2.- La courbe de type méningitique d'autre part ne peut être expliquée qu'en partie par une simple élévation du rapport $\frac{\text{serine}}{\text{globuline}}$: les expériences sur lesquelles reposaient cette notion étaient faites avec une albumine contaminée de globulines α et β

3.- Les proportions entre englobulines et pseudoglobulines ont une grande importance dans certains types de floculation intéressant les premiers tubes (Kafka) .

DELCOURT a étudié l'action des fractions protéiques de Kohn sur la floculation du Benjoin colloïdal et confirmé que selon leur concentration toutes les protéines peuvent avoir un pouvoir protecteur et floculant à un pH donné .

PRESS comparant les protéines du sérum et du liquide céphalo-rachidien au cours de la sclérose en plaques arrive aux conclusions suivantes :

- La concentration en γ globulines du Liquide céphalo-rachidien a une étroite corrélation avec la floculation des premiers tubes de la réaction à l'or colloïdal .

- Dans les conditions de la technique les Albumines, les globulines et les β globulines inhibent la floculation des premiers tubes .

- Les α globulines du Liquide céphalo-rachidien ont un pouvoir protecteur plus important que les α globulines du sérum .

- La protéine δ , située entre les β et γ globulines, absente ou peu abondante dans le sérum, inhibe fortement la réaction à l'or colloïdal .

Ce composant, de constante de sédimentation très lente serait responsable ,avec les α globulines , de la négativité de la réaction à l'or colloïdal dans le Liquide céphalo-rachidien , opposée à sa positivité dans le sérum .

- EN PRATIQUE :

la floculation des premiers tubes est en rapport avec l'élévation des gammaglobulines .

La réaction méningitique correspond à l'augmentation de la plupart des autres protéines . Cependant le rôle des modifications qualitatives des gamma globulines et des variations d'autres fractions protéiniques est probable : l'exploration des globulines , des englobulines et de certaines macroglobulines (Hartman) reste indispensable pour éclairer le mécanisme des réactions empiriques .

- SENSIBLLITE des REACTIONS de FLOCULATION :

La floculation dans les premiers tubes traduit en clinique l'existence d'une hypergammaglobulinorachie; elle s'observe dans les affections qui s'accompagnent d'une telle anomalie et en particulier :

- La paralysie générale
- La sclérose en plaques .

On sait que dans la Paralysie générale la floculation se fait dans les 7 à 10 premiers tubes . Nous verrons que la paralysie générale est une des affections qui donne les élévations les plus importantes et les plus constantes des gamma-globulines dans le Liquide Céphalo-rachidien .

Dans la sclérose en plaques : la réaction est plus faiblement positive (dans les 3 premiers tubes par exemple) avec une discrète prolongation vers la droite de la floculation de la zone centrale, elle est aussi beaucoup plus inconstante que dans

la paralysie générale (60 % environ de cas pour GUILLAIN et MARQUEZY)

Nous verrons que l'élévation des gammaglobulines du Liquide céphalo-rachidien est moins importante dans la sclérose en plaques que dans la paralysie générale .

La réaction à l'Or colloïdal,mise au point par LANGE en 1939, donne des résultats plus satisfaisants . On observe une floculation de type " D " dans 70 % des cas de sclérose en plaques.

Par électrophorèse sur papier, BAUER a trouvé une hypergammaglobulinorachie dans seulement 43 % des cas .

Le dosage spécifique des gammaglobulines décèle une hypergammaglobulinorachie dans 90 à 95 % des cas de sclérose en plaques . (Kabat - Freedman - Delay - Mollaret et Coll.)

On voit :

1.- Qu'il est possible d'améliorer les résultats fournis par les réactions de floculation : mais tous les auteurs s'accordant pour souligner les difficultés de la réaction de LANGE .

2.- Qu'il y a un intérêt certain à utiliser des méthodes de dosage spécifique des gammaglobulines du Liquide céphalo-rachidien.

REACTIONS de FLOCULATION SERIQUE APPLIQUEES au L.C.R.

L'exploration du Liquide céphalo-rachidien peut être, comme celle du sérum , orientée vers l'étude des corrélations cliniques et biochimiques de " tests " , dits hépatiques, qui , en réalité, précipitent en fonction de l'équilibre des diverses protéines de l'humeur étudiée .

Après avoir rappelé quelques-unes de ces épreuves qui ont été appliquées au Liquide céphalo-rachidien ,nous rapporterons les résultats que nous avons pu obtenir grâce à la réaction de au Rouge colloïdal .

- TEST au THYMOL :

DELCOURT a adapté le test de MAC-LAGAN au Liquide céphalo-rachidien .

Le liquide normal ne donne aucune floculation (moins de 0,3 Unités Mac-Lagan)

Dans la Paralysie générale , la réaction est positive (jusque 4 unités Mac

SIGNIFICATION .-

On sait que dans le sérum cette réaction a une signification très particulière puisque la globuline qu'elle précipite migre pour une part avec les β globulines et que les Gamma-globulines pures ne précipitent pas la solution de Thymol .

Récemment HARTMANN et Coll. ont observé une corrélation entre ce test et l'élévation de la β_2 M -globuline (Macro-globuline) .

- REACTION de TAKATA-ARA-GROS au BICHLORURE de MERCURE (sublimé) :

Il s'agit là d'une épreuve classique dans le Liquide céphalo-rachidien (Demanche) .

Le sublimé précipite en présence du Liquide céphalo-

rachidien de malades atteints de syphilis neurologique évolutive.

SIGNIFICATION .-

Cette réaction, moins sensible que celle de HANGER, est en rapport avec l'élévation des Gammaglobulines, mais elle peut être rendue positive par une diminution isolée de l'albumine.

- REACTION du CADMIUM (WUNDERLY et WUHRMANN) :

Ce test appliqué au Liquide céphalo-rachidien est négatif à l'état normal et devient positif de façon très franche et très facile à lire dans divers états pathologiques (Szayna) .

Il s'agit d'une méthode très sensible dont la signification clinique serait sans doute explorée avec fruit .

DANS LE SERUM

WUNDERLY pense qu'elle devient positive chaque fois qu'il y a augmentation simultanée des α et γ globulines; par contre l'augmentation ou la modification de certaines β globulines (myélomes , macroglobulinémies) accroissent la stabilité du sérum qui ne précipite qu'après adjonction d'une plus grande quantité de sulfate de Cadmium .

- REACTION de HANGER à la CEPHALINE CHOLESTEROL :

Nous parlerons longuement de ce test à propos du dosage des gammaglobulines ,puisque SAIFER a pu l'adapter au Liquide céphalo-rachidien et en faire une véritable méthode de dosage des gammaglobulines .

- TEST au ROUGE COLLOÏDAL :

On sait que ce test proposé par MAIZELS (1946) modifié par DUCCI , puis par Guy ALBOT a une signification assez particulière parmi les réactions sériques en hépatologie : Melle WEIL arrive à cette conclusion que sa positivité traduit

l'existence d'une hépatite mésenchymateuse, évolutive .

Nous avons étudié, avec l'aide de P.E. FOURNIER, une série de 78 malades chez qui cette réaction avait été faite sur le Liquide céphalo-rachidien dans le service de notre Maître le Professeur ALAJOUANINE .

TECHNIQUE :

Réactifs : Solution de rouge colloïdal :

La solution mère est obtenue en dissolvant une dose de rouge Cérol RAL dans 100 cm3 d'alcool absolu ; cette solution utilisable après 48 heures d'étuve à 37°, se conserve bien .

A 10 ml de la solution mère, on ajoute rapidement en agitant 50 ml d'eau distillée ,chauffée à 55°.

Le mélange est porté au bain-marie et on laisse évaporer jusqu'au volume total d'environ 20 ml.

On étend ensuite à 500 ml avec de l'eau distillée et on laisse reposer une semaine .

Le réactif est conservé (jusqu'à 2 mois) au réfrigérateur .

Solution tampon pH 7,37 (à contrôler)

Dissoudre en chauffant légérement dans 90 ml d'eau distillée :

- Barbital sodique ———— 0,222 g
- Barbital ———— 0,639 g
- Acide phénique ———— 0,200 g

Après refroidissement,compléter jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée .

Cette solution se conserve à la température du laboratoire .

- REALISATION DU TEST

Dans deux tubes à hémolyse , on mêle :

- 2,5 ml de solution de Rouge colloïdal
- 0,5 ml de solution tampon .

Dans le premier tube qui sert de témoin on ajoute 2 ml d'eau distillée .

Dans le deuxième tube, on introduit 2 ml de Liquide céphalo-rachidien .

LECTURE : nous n'avons considéré comme positives que les précipitations avec décoloration complète du mélange .

- un seul degré a été envisagé (+) lorsque la décoloration ou la précipitation n'étaient pas tout à fait complètes .
- Nous avons, étant donné la sensibilité de la réaction, considéré comme négatives les décolorations et précipitations légères .

RESULTATS .-

Nous avons pu étudier ainsi 78 malades et nous avons cherché à établir un certain nombre de corrélations entre la réaction du Rouge Colloïdal d'une part et l'affection neurologique en cause, les autres anomalies du L.C.R. d'autre part. Les liquides considérés contenaient un taux normal ou subnormal d'albumine.

ETUDE de LIQUIDES PRELEVES CHEZ les EPILEPTIQUES :

1.- On remarquera sur le tableau I qu'il n'existe aucune corrélation entre la réaction du rouge colloïdal et le type clinique des phénomènes paroxystiques ; en particulier les crises accompagnées de secousses musculaires localisées ou généralisées ne se différencient pas des crises sans secousses musculaires.

2.- Par contre la réaction du Rouge colloïdal est pratiquement toujours positive dans l'épilepsie acquise de l'adulte, que les manifestations critiques apparues pour la première fois aient entrainé l'hospitalisation ou que celle-ci ait suivi la réapparition de crise chez un épileptique connu et traité depuis moins de un an (TABLEAU II).

3.- Dans les épilepsies plus anciennes qu'il s'agisse de crises dites essentielles avec ou sans encéphalopathie de l'enfance ou de phénomènes critiques connus depuis plusieurs années, les réactions franchement positives sont beaucoup plus rares. Lorsque la réaction est positive les manifestations comitiales s'accompagnent habituellement d'un contexte clinique particulier dont l'élément le plus constant est l'importance des troubles de l'humeur et du comportement (5 cas sur 8 réactions du Rouge colloïdal positive dans l'épilepsie ancienne)(Tab.III)

4.- Une réaction cellulaire lombaire (plus de 1 cellules) ou céphalique (plus de 5 cellules) est fréquemment associée à la positivité du Rouge colloïdal, mais la corrélation n'est pas constante et dans l'ensemble on observe pas de différence entre les épilepsies anciennes ou récentes en étudiant la réaction cellulaire du liquide (TABLEAU II et III).

LIQUIDES de SCLEROSE en PLAQUES et de PARALYSIE GENERALE (TABLEAU IV)

Dans la sclérose en plaque le test a été positif dans 8 liquides, subpositif dans 2 provenant de scléroses en plaques cliniquement indiscutables. Le test au Benjoin colloïdal n'a été positif que cinq fois dans ces 10 liquides. Dans 3 cas où le diagnostic était douteux le test a été négatif deux fois.

Dans la paralysie générale évolutive (récente, non traitée, comportant une réaction cellulaire) la réaction est positive; alors que la réaction au Benjoin colloïdal reste positive dans les premiers tubes de façon plus ou moins marquée, le test au rouge colloïdal est négatif dans les paralysies générales en cours de stabilisation.

LIQUIDES de PROVENANCE DIVERSES :

La réaction du rouge colloïdal est positive dans les syndromes méningés récents (méningite tuberculeuse, hémorragie méningée).

Le test peut-être positif dans les syndromes vasculaires, les tumeurs cérébrales et à la suite des trauma-crâniens récents.

La réaction a été négative :

- chez un malade atteint de syringomyélie.
- dans une encéphalopathie infantile.

TABLEAU I

78 MALADES DIAGNOSTICS ET PARTICULARITES CLINIQUES			TEST AU ROUGE COLLOIDAL	
	REACTIONS CELLULAIRES		+	±
44 EPILEPSIES — 35 convulsives			17	18
44 EPILEPSIES — 9 non convulsives			4	5
46 EPILEPSIES — 29 évoluant depuis plusieurs années	15	14	8	21
46 EPILEPSIES — 17 récentes de l'adulte	8	9	15	2
13 S.E.P.			11	2
5 P.G. — 2 évolutives			2	
5 P.G. — 3 stabilisées				3
4 SYNDROMES MENINGES (Mén. Tub, Mén. lymph., Hém. mén.)			4	
2 SYNDROMES VASCULAIRES			1	1
2 TC			1	1
3 TRAUMA CRANIEN			2 (récents)	1
1 SYNDROME CEREBELLEUX AVEC EOSINOPHILIE				1
1 SYRINGOMYELIE				1
1 ENCEPHALOPATHIE INFANTILE				1

TABLEAU II -

EPILEPSIES RECE

NOM	Gr	Sa	Ma	Ja	Gr	Pe	Ro	Bo	Ba	Ma	Ka	Mo	Bi	Mo
DUREE	Moins de un an													
CELLULES	N	N	N	+	+	+	+	N	+	N	+	+	+	N
R.C.	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	± N	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	+	⊕
CAUSE OU CONTEXTE	?	?	Métastase	Ethylisme	Ethylisme	?	Hématome	Métastase	Traumatisme	Traumatisme	Vasculaire Atrophie cortiçale	?	Traumatisme	Otite

N T È S

La	Ma	Co	17 CAS
N	N	N	8 réactions cellulaires
⊕	⊕	⊕	15 réactions R.C. positives
Vasculaire	Ethylisme	Traumatisme	9 lésions évolutives récentes { 2 cancers métastatiques; 1 hématome cérébral; 4 traumatismes; 2 vasculaires }

TABLEAU

EPILEPSIES

CAUSE OU CONTEXTE	ROUGE COLLOIDAL	CELLULES	DUREE d'EVOLUTION ANNEES	NOM
Agénésie du corps calleux Débile	N	+	20	Pi
	+! N	N	17	Ve
	N	+	4	Ha
	+! N	+	11	Cou
Diabète, vasculaire	(+)	+	10	Bou
Tr. comport^t^ Etat dépressif - trauma	(+)	+	10	Dv
Trauma obstetrical	+! N	N	7	Sa
Ethylisme	+! N	N	27	Ja
Trauma ancien	N	N	4	Che
Débile	N	N	7	Ca
	N	N	10	Sau
Ethylisme	N	N	3	Ens
Dilat. ventricul. Débile	N	N	13	Pc
Ethyle - traumatisme	+!	N	7	Va

NCIENNES

e	Le	Gl	Fr	Ga	Du	Lan	Bru	Ross	Ger	Hl	Ju	Ar	Bo	Le	29 Cas
8	8	9	20	22	8	12	18	11	7	5	10	22	12	25	
	+	+	N	+	+	+	+	N	+	+	N	+	+	N	16 réactions cellulaires
	(+)	N + -	(+)	(+)	(+)	N + -	N + -	N + -	N	(+)	N	N + -	N	(+)	8 rouge colloïdal positif
	Tr. caract. Trauma obstétrical		Tr. caract. Encéphalite - Rougeole	Tr. comport. Tr. comport. Anc. prématuré		Débile	Hémiplégie - trauma		Débile	Traumatique		Traumatisme			

TABLEAU IV

S. E. P.

De	+ Lig^{t}	+	+	+
	Ben	RC	Cellules	Clinique
Au	+	+	-	+
Sa	+	+	+	+
Ob	+	±	+	+
Pel	-	+	+	+
Co	-	+	+	+
Bi	-	-	-	?-
Gu	+	+	+	+
Ba	-	-	-	?-
Se	-	+	+	+
Scho	-	±	-	+
Fo	-	+	-	+
La	-	+	+	?
	P. G.			
To	+	+	+	+ évol.
Ga	+	+	+	+ évol.
He	±	-	-	ancien
Le	+	-	+	Stabilisé
De	±	-	-	Stabilisé

13 SCLEROSES en PLAQUES

- 3 Diagnostics douteux { 1 R.C. positif + Benjoin +
  2 R.C. négatifs

- 10 Diagnostics fermes : - 8 R.C. positifs } 5 benjoin
  - 2 R.C. subpositifs } positifs

5 PARALYSIES GENERALES : 5 Benjoins + ou ± dans les 1ers tubes
2 R.C. + (cas évolutifs)

DISCUSSION

Signification du rouge colloïdal dans le Sérum

Que ce soit dans les cirrhoses (Guy ALBOT) ou dans la silicose (P.E, FOURNIER) la positivité du rouge colloïdal si,elle accompagne généralement un trouble de l'équilibre protidique n'est en corrélation absolue avec aucun profil protidique : en particulier si les gamma globulines sont toujours élevées en cas de RC positif l'augmentation des gammaglobulines peut s'observer associée à un RC négatif .

ANS LE LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN

La plupart des affections où le Rouge colloïdal été positif peuvent comporter une hypergammaglobulinorachie ,

Par contre, le contraste entre la positivité u Benjoin dans le premier tube au cours des paralysies générales t la négativité du Rouge colloïdal dans les cas non évolutifs font nvisager la possibilité d'une hypergammaglobulinorachie avec ouge colloïdal négatif .

Sur le plan clinique, qu'il s'agisse d'épilepsie symptomatique , de traumatisme crânien ou de paralysie générale, le rouge colloïdal parait en rapport avec le caractère récent et évolutif des lésions .

PREMIERE PARTIE

- Chapitre III -

BIBLIOGRAPHIE

BULLOCK F.N. et FLEISCUEACKER H.H.

Interpretation of the Pandy test

Acta Psych. Neur. Scand. 1951 - 26 - 149

COHEN P.C. and THOMPSON F.

Mechanism of the thymol turbidity test

J. Lab. and Clin. Med. 1947 - 32 - 314 et 475

DELCOURT R.

Etude des fractions proteiniques de KOHN sur la floculation du Benjoin colloïdal

Acta Neur, Psych. Belgica 1949 - 49 - 327

DELCOURT R., MANET CH.

Application au Liquide céphalo-rachidien des réactions de floculation sérique : Le thymol test

Acta Neur. et Psych. Belg. 1949 - 49 - 96

DEMANCHE R.

Précis de technique du Sérodiagnostic de la Syphilis

G. DOIN Ed. PARIS 1952

DOGNON A. et SIMONOT

Mécanisme de la réaction du Benjoin colloïdal et nouvelle réaction de floculation du L.C.R.

Bull. Soc. Chim. Biol. 1944 - 26 - 277

FIESSINGER N., OLIVIER H.R., HERBAIN M.,

Les diagnostics biologiques et fonctionnels

MALOINE Ed. PARIS 1949

FOURNIER R.GUYOTJEANNIN CH.

Le test de Ducci (Rouge colloïdal) dans la silicose

Arch. des Maladies professionnelles 1957 - 18 - 548

GRABAR P., BURTIN P. et SELIGMAN M.

Etudes immuno-électrophorétiques et immuno-chimiques des a-gamma-globulinémies

Rev. Fr. d'Etudes Cliniques et Biologiques 1958 - 3 - 41

GUILLAIN G., LAORCHE G., LECHELLE P.

La réaction du Benjoin colloïdal et les réactions col - loïdales du Liquide céphalo-rachidien

MASSON, Ed. PARIS 1922

GUILLAIN G. et MARQUEZY R.

Etude sur le liquide céphalo-rachidien dans la sclérose en plaques

Presse Médicale 1924-32 - 429 1er semestre

HARTMANN L., BOIVIN P. et FAUVERT P.

Macroglobulines et Macroglobulinémies

Exposés annuels Bioch. Méd.

MASSON Ed.PARIS, 1957

LANGE C.

Methods for the examination of cerebrospinal fluid

Am.J.Syph.Gon. and Ven. Dis. 1939 - 23 - 638

LANGE C. and HARRIS H.

The signifiance of the pH in the gold reaction

J. Lab. and Clin. Med. 1944 - 29 - 970

LANGE C.

Theory of the colloïdal gold reaction

Journ. Lab. and Clin. Med. 1945 - 30 - 1006

LANGE C., HARRIS A.H.

Interpretation of findings in the cerebrospinal fluid.

I - The dementia paralytica formula and the necessity of its quantitative differenciation

Arch. Neurol. 1945 - 53 - 116

LANGE C.

Interpretation of findings in the cerebrospinal fluid

II - The technic and systematic interpretation of the albumin globulin ration in the cerebro - spinal fluid

J. Lab. and Clin. Med. 1946 - 31 - 552

LANGE C. and HARRIS A.H.

Interpretation of findings in cerebro-spinal fluid

III - Syndrome of multiple sclerosis

Am.J.Clin. Path. 1949 - 19 - 16

LANGE C.

A test fluid for control of the colloïdal gold reaction

J. Lab. Clin. Med. 1947 - 32 - 579

LANGE C. and HARRIS A.H.

Stabilized citrate gold for use in the colloïdal gold reaction

J. Ven. Dis. Inf. 1948 - 29 - 265

LANGE C., MILLER J.K., HARRIS A.H.

Simplified method derived from the quantitative gold reaction

Am.J.Clin. Path. 1950 - 20 - 872

LAROCHE G.

Examens de laboratoire du médecin praticien

MASSON, Ed. PARIS 1949

MERRIT H.H. and FREMONT-SMITH F.

The cerebrospinal Fluid in multiple sclérosis

Brain 1934 - 57 - 56

MOORE D.B., PIERSON P.S., HANGER F.M. and MOORE D.H.

Mechanisms of positive cephalin cholesterol floculation in hepatitis

J. Clin. mv. 1945 - 24 - 292

MULLER R.

Correlation between the state of the cerebrospinal fluid and the clinical pictures in Disseminated Sclerosis

Acta Med. Scand. 1951 - 139 - 153

PRESS E.M.

A comparative study of cerebrospinal fluid and serum proteins in multiple sclerosis with special reference to the LANGE colloïdal gold reaction

Bioch.J. 1956 - 63 - 367

SZAYNA M.

Cadmium test of turbidity of the cerebrospinal fluid

Polish Med. Weekly 1952-7 - 1688

VON STORCH Th.J.C., HARRIS A.H. and LAWYERT Jr

Cerebrospinal fluid examination in diagnostic of multiple sclerosis, with emphasis on the quantitative gold reaction

in Multiple Sclerosis and Demyelincting Diseases

Ass. Nerv. and Ment. Dis.
WILLIAMS and WILKINS, BALTIMORE, 1950 - 28 - 440

WEIL H.A.

Le test au rouge colloïdal et ses indications

Thèse PARIS 1955, Dact. 595

WUHRMANN F.

La réaction au Cadmium

Triangle 1958 - 111

DEUXIÈME PARTIE

DEUXIÈME PARTIE

- I -

DOSAGES CLASSIQUES des PROTEINES du LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN

DOSAGES CLASSIQUES DES PROTÉINES DU LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN

PROTÉINES TOTALES

Le dosage des protéines totales du Liquide céphalo-rachidien peut être réalisé par des méthodes cliniques très simples qui suffisent si l'on veut donner l'ordre de grandeur d'une hyper-albuminorachie : de ce point de vue les différences entre les méningites, les syndromes de compression, les polyradiculonévrites d'une part et les syndromes parenchymateux d'autre part (Encéphalites , sclérose en plaques) sont suffisamment grandes pour que l'on puisse se contenter d'une précision moyenne .

Il importe de disposer de méthodes plus exactes si l'on veut établir le rapport entre le taux d'une des fractions protéiques avec les protéines totales . A cette condition ,il sera possible de mettre en évidence un déséquilibre de la protéinorachie.

Ainsi telle fraction - peut augmenter en gardant un pourcentage normal dans les protéines totales du Liquide-Céphalo rachidien ;

- elle peut également s'égaler au pourcentage normal ou pathologique de la protéine correspondante dans le sérum ;

- surtout on peut observer dans le Liquide céphalo-rachidien des augmentations considérables du taux d'une protéine par rapport aux protéines totales, alors que l'équilibre des protéines sériques reste quasi normal .

La plupart des auteurs interprétent cette dernière éventualité comme traduisant une origine neuroméningée de cette protéine.

METHODES de DOSAGE

Plusieurs travaux récents ont traité ce problème en France ,nous citerons :

- ALAJOUANINE , THUREL et DURUPT (1947)
- NORDMAN (1947)
- CARTIER et PICARD (1957)
- BURTIN, DOUTRIAUX et POCIDALO (1958)

De ces différentes études on peut tirer les conclusions suivantes :

- METHODES de REFERENCES :

Gravimétrie - la pesée du précipité des protéines n'est pratiquement pas utilisée .

Microkjeldahl -On sait que par cette méthode on dose l'azote du précipité trichloracétique des protéines après minéralisation par l'acide sulfurique . La proportion d'azote par mg de sérine est trsè comparable à celle de la même quantité de globulines - (16 %) . C'est dire que les résultats de cette méthode , relativement complexe, ne seront guère fournis par les variations du rapport $\frac{\text{sérine}}{\text{globuline}}$.
Ce dernier facteur est par contre le principal écueil de la plupart des méthodes cliniques .

- METHODES CLINIQUES :

- Méthode de SICARD et CANTALOUBE :

A 4 ml de Liquide céphalo-rachidien chauffés à 80° dans un tube gradué,on ajoute XII gouttes d'acide trichloracétique à 33 % . Après avoir retourné 3 fois le tube ,on laisse reposer et on lit sur la graduation la hauteur du précipité .

Cette technique donne,en particulier pour les

taux élevés de protéines, des chiffres trop faibles.

- Méthode de KAFKA-SAMSON (Laps)

Ce procédé ,relativement complexe, est utilisé par de nombreux auteurs scandinaves .

Le précipité picro-citrique des protéines est mesuré,après centrifugation dans un tube calibré et gradué .

- Néphélométrie :

Méthode de Mestrezat : à 2 ml de Liquide céphalo-rachidien à l'ébullition, on ajoute IV gouttes d'acide trichloracétique au 1/3 . On mesure l'opacité obtenue par comparaison à celle d'une gamme faite de solutions de concentration croissante d'albumine d'oeuf .

Pour BURTIN et Coll, cette méthode,assez exacte, donne cependant des chiffres trop élevés .

Méthode de KOBER : la précipitation est obtenue par l'acide sulfosalicylique .

- Ces deux méthodes ne sont guère faussées par les variations du rapport $\frac{\text{sérine}}{\text{globuline}}$ si l'on opère rapidement (Nordman) .

- Récemment, on a montré que la Néphélométrie faite avec précipitation par l'acide trichloracétique donnait des résultats très exacts,ne dépendant pas du rapport $\frac{\text{Sérine}}{\text{globuline}}$ (Henry) .

-Colorimétrie :

Elle est recommandée par de nombreux auteurs récents .

- Index tyrosinique : cette réaction utilise la coloration bleue produite par la tyrosine des protéines après addition du réactif phospho-tungsto-molybidique de FOLIN et DENIS (réactif des phénols) en milieu alcalin.

Cette méthode est peu influencée par le rapport $\frac{\text{Sérine}}{\text{globuline}}$.

- Méthode du Biuret : elle repose sur le fait que les molécules contenant des liaisons peptidiques traitées par le Sulfate de cuivre en milieu alcalin donnent une coloration violette; par cette technique, on dose les protides et aussi les polypeptides ,dont les humeurs contiennent toujours une certaine proportion .

La précipitation des protéines par l'acide trichloracétique, l'acide sulfosalicylique ou l'acétone à froid laisse en solution les polypeptides, alors que l'acide phosphotungstique précipite ces derniers .

Le dosage des protéines par la méthode du Biuret doit donc être fait sur le précipité trichloracétique des protéines : BURTIN et coll. ont en effet montré que le liquide céphalo-rachidien contenait une proportion d'autant plus faible de polypeptides que le taux des protéines totales était plus élevé .

Avec le réactif de GORNAL on obtient dans ces conditions des chiffres dont l'erreur moyenne est ± 13 %.

- Spectrophotométrie en Ultra-violet :

Au prix d'un appareillage coûteux, cette méthode permet de doser les protéines en gardant l'échantillon utilisable pour le dosage des diverses fractions (Bendixen) .

- CONCLUSIONS :

Les techniques précises utilisables couramment sont de deux ordres :

- Néphélométriques : mesure au photomètre de la obtenue par adjonction d'acide trichloracétique à 33 % .
- Colorimétriques : la méthode du Biuret semble la plus satisfaisante .

PRINCIPAUX RESULTATS FOURNIS PAR les DOSAGES de PROTEINES TOTALES du L.C.R.

- LIQUIDE NORMAL :

Le liquide ventriculaire est normalement très pauvre en protéines : il contient moins de 10 mg pour 100 ml de protéines totales .

Le liquide lombaire contient 15 à 25 mg pour 100 ml de protéines : un chiffre supérieur à 35 mg est pathologique .

- LIQUIDES PATHOLOGIQUES :

Deux types d'hyperprotéinorachie sont à distinguer :

- Les hyperprotéinorachies discrètes : (jusque 60 mg pour 100 ml) elles s'observent :
  - dans les méningites virales
  - dans les encéphalites non suppurées :
    - . leucoencéphalites
    - . encéphalites épidémiques
  - dans la sclérose en plaques
  - dans la syphilis neuro-méningée tertiaire
  - dans certaines commotions cérébrales

- Les fortes hyperprotéinorachies correspondent aux taux supérieurs à 60 à 100 mg pour 100 ml :
  - Méningites à germes figurés :
    - . purulentes
    - . tuberculeuses
  - Compressions médullaires
  - Polyradiculonévrites .

RAPPORT $\frac{\text{SERINE}}{\text{GLOBULINE}}$

- METHODES et RESULTATS :

Bien avant l'apparition des méthodes électrophorétiques , on a cherché à appliquer au Liquide céphalo-rachidien les techniques utilisées dans le sérum pour séparer l'albumine vraie des globulines .

1.- METHODE de SIKOWITZ : c'est un fractionnement par le Sulfate d'ammonium suivi d'un dosage d'Azote sur le précipité .

Voici les résultats obtenus par comparaison avec l'électrophorèse :

	L.C.R.	SERUM
Fractionnement salin	4 à 8	1,7
Electrophorèse	1 à 1,2	1 à 1,2

La plus grande richesse en albumine du Liquide céphalo-rachidien suggérée par les résultats des méthodes de fractionnement salin n'est pas confirmée par l'électrophorèse .

Or, FLODEN a montré, en soumettant à l'électrophorèse les fractions obtenues dans le Liquide céphalo-rachidien par la précipitation au Sulfate d'ammonium que " l'Albumine " obtenue contenait en réalité la majorité des α et β globulines et que les globulines précipitées étaient principalement des γ globulines : ces résultats expliquent l'élévation du rapport $\frac{\text{Sérine}}{\text{globuline}}$ du fractionnement salin qui est en réalité pour les taux faibles de protéines , un rapport :

$$\frac{\text{Albumine} + \alpha\ \text{globuline} + \beta\ \text{globuline}}{\gamma\ \text{globuline}} .$$

FLODEN considère d'ailleurs ce rapport comme particulièrement intéressant, rappelant que d'après les résultats de MILLER, seules les γ globulines peuvent être synthétisees in situ, les autres protéines provenant du foie .

2.-Fractionnement par l'alcool méthylique

Signalons qu'une méthode de fractionnement par l'alcool méthylique permettrait de doser de façon plus sélective chacune des fractions : Sérum et globuline (LANGE) .

- PRINCIPALES VARIATIONS :

Le rapport ainsi défini a deux types de variations opposées :

- dans les méningites aigües, il s'élève considérablement et d'autant plus que le taux de protides totaux est élevé .
- dans les syphilis nerveuses , le rapport est diminué , l'abaissement est particulièrement important dans la paralysie générale . Cette baisse correspond généralement à une élévation discrète du taux des protéines totales (Floden - Kafka - Lange) .

FIBRINOGENE

L'absence de fibrinogène dans le Liquide céphalo-rachidien est une notion classique : il ne coagule normalement, ni spontanément, ni apr_s adjonction de thromboplastine .

Au cours des compressions séparant le liquide lombaire des aires de résorption et de sécrétion encéphaliques, on peut observer l'apparition de fibrinogène associé à une élévation considérable du taux des protéines .

L'apparition du fibrinogène s'accompagne toujours d'une élévation du rapport $\frac{\text{Albumine}}{\text{globuline}}$ (LANGE) et d'une forte hyperprotéinorachie .

DEUXIEME PARTIE

— Chapitre I —

BIBLIOGRAPHIE

ALAJOUANINE Th., THUREL, DURUPT

Dosage de l'albumine dans le liquide céphalo-rachidien

Comptes-Rendus Soc. Neurologie 6 - 3 - 1947

BENDIXEN G.

Quantitative determination of protein in serum and cerebrospinal fluid. Direct spectrophotometry in the extreme ultra violet range

Nordisk Median, STOCKHOLM, 1957, 58, 1487

BURTIN P., DOUTRIAUX D., POCIDALO J.J.

Contribution à l'étude de la proteinorachie. Intérêt de la méthode du biuret

Presse Médicale 1958 - 66 - 413

CARTIER P. et PICARD J.

Etude comparée de quelques méthodes de dosage des proteines dans les liquides biologiques

Ann. Biol. Clinique 1957 - 15 - 459

DAUGHADAY W.H., LOWRY O.H., ROSEBROUGH N.S. and FIELDS W.S.

Determination of cerebrospinal protein with Folin Phenol reagent

J. Labor. and Clin. Med. 1952 - 39 - 663

DITTEBRANDT M. Application of the Weichselbaum Biuret reagent to the determination of spinal fluid protein

Amer. J.Clin. Path. 1948 - 18 - 439

FLODEN CH.

(Les proteines du liquide céphalo-rachidien dans la Syphilis)

Acta Derm. Venereol. 1955 - 35 - 5 - Suppl.32

GOA J.

A micro biuret method for protein determination : Determination of total protein on cerebrospinal fluid

The Scand.J. of Clin. and Lab. Investigation : 1953 - 5 - 218

HENRY R.J., SOBEL C.M. and SEGALOVE M.

Turbidimétric determination of proteins with sulfosalicylic acid and trichloracetic acids

Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 1956 - 92 - 749

ISIKOWITZ S.

Methodological and Clinical Studies on total protein, globulin and albumin concentrations in lumbar fluid

Erlanders Boktyekeri, STOCKHOLM 1941

LOISELEUR J.

Techniques de Laboratoire

2 vol. MASSON, Ed. PARIS 1954

MADOMICK et SALOMON

Proteines totales du liquide céphalo-rachidien dans le myélome multiple

Excepta Medica 1954 - 4 - 288

MARRON T.V.

Cerebrospinal fluid determination by tyrosin equivalent

Amer. J. Med. Sci. 1941-202-330

MONNET P., GALLOIS P.

Valeur semeiologique de l'hyperalbuminorachie des liquides clairs chez le nourrisson.

Bull. Med. 1954 - 68 - 220

NORDMANN J.

Etude critique des méthodes de dosage clinique de l'albumine dans le Liquide céphalo-rachidien

Rapport 1er Congrès Intern. Biol. Clin. PARIS Nov. 1947

OLOFSSON

(Proteines totales. Globuline et Albumine du liquide céphalo-rachidien dans l'épilepsie cryptogénetique)

Acta psych. Nerv. Scand. 1948 Suppl. 50

ROSENTHAL H.L., CUNDIFF M.I.

New Binret Reagent for the determination of protein in cerebrospinal fluid

Clinical Chemistry 1956 - 2 - 394

WEICHSELBAUM T.E.

Accurate and rapid methodfor determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma

Am. J. Clin. Path. Techn. Sect. 1946 - 10 - 40

DEUXIÈME PARTIE

II

NOUVELLES METHODES de DOSAGE des DIVERSES FRACTIONS

NOUVELLES MÉTHODES DE DOSAGE DES DIVERSES FRACTIONS

Actuellement l'étude des ffactions protéiques ne peut être centrée ni sur le plan technique, ni dans leur classification sur la simple séparation électrophorétique .

Nous voudrions étudier, comme il est possible actuellement , les protéines et leurs techniques de dosage de façon symétrique dans le sérum et le Liquide céphalo-rachidien ; nous envisagerons successivement :

- Les gammaglobulines
- Deux classes principales de Glycoprotéines
- Deux classes de lipoprotéines .

GAMMAGLOBULINES

- MOYENS d'ETUDES SPECIFIQUES (en dehors de l'électrophorèse) :

Méthodes immuno-chimiques : elles ont confirmé l'homogénéité et l'identité avec les γ globulines sériques des γ globulines du Liquide céphalo-rachidien .

En 1948, KABAT et ses collaborateurs mirent au point une technique de dosage immuno-chimique de l'albumine et des gamma globulines du Liquide céphalo-rachidien : l'azote du précipité étant mesurée par microkjeldahl .

Ils mesurèrent le taux des protides totaux par turbidimétrie après précipitation sulfosalicylique :

RESULTATS en mg pour 100 ml	
Protides totaux	25 - 38
Albumine	11 - 19
Gammaglobuline	1,7 - 3,9

Ces chiffres obtenus chez des sujets normaux sont analogues mais avec des écarts plus grands chez les malades dont le Liquide céphalo-rachidien est présumé normal (affections non neurologiques).

On remarque que le taux d'albumine est bien si l'on considère la moyenne (15) égale à 50 % des protéines totales (30) .

Depuis, les travaux de cet auteur ont confirmé l'intérêt de cette technique de dosage des gammaglobulines .

En France ,BURTIN et POCIDALO ont mis au point une technique analogue ,facile à utiliser de façon courante :

- des lapins sont immunisés contre les γ globulines .
- On mesure par opacimétrie ou néphélométrie la quantité de précipité spécifique obtenu en mélant le Liquide céphalo-rachidien à l'immuno-sérum dans des conditions de volume, de température et de temps d'incubation bien précisés .

Le taux normal est de 20 à 40 microgrammes par cm3 , soit :

2 à 4 ou 5 mg pour 100 ml

La marge d'erreur est de plus ou moins 7 % . Les liquides normaux contiennent moins de 5 mg par 100 ml,

- Méthode de précipitation spécifique

SAIFER et ses collaborateurs ont étudié une méthode différente qui est en réalité une modification de la réaction de HANGER à la Céphaline-Cholestérol .

- Une première version de la technique (1950) mesurait simplement le degré de floculation du mélange Liquide céphalo-rachidien, solution de HAYEN ,émulsion de Céphaline-Cholestérol .

- En 1953, les mêmes auteurs rendirent la technique plus précise et sans doute plus spécifique :

1.- en utilisant une émulsion de Cholestérol-acide désoxychol. qui semble réagir très spécifiquement avec les gamma globulines .

2.- En dosant le précipité par photométrie après coloration par la ninhydrine.

3.- En dialysant au préalable le Liquide céphalo-rachidien contre de l'eau distillée pour reconstituer un milieu de solution pour les protéines ,bien tampenné et de force ionique connue .

Ils obtiennent les chiffres normaux suivants :

2,6 à 4,5 mg de gammaglobulines pour 100 ml de Liquide céphalo-rachidien.

La méthode permet de mesurer :

0,7 à 16,9 mg pour 100 ml $\pm$ 0,18

Les résultats de cette technique concordent remarquablement avec ceux des méthodes immunologiques :

Méthode	Auteur	Résultats en mg pour 100 ml
Immuno - Chimique	KABAT	1,7 à 3,9
	BURTIN	2, à 4
Précipitation par l'acide désoxycholique. cholestérol	SAIFER	2,6 à 4,5

Ainsi est confirmée la pauvreté relative du Liquide céphalo-rachidien en gammaglobulines puisqu'il contient normalement moins de 8 % de ces protéines contre environ 20 % dans le plasma .

- Les HYPERGAMMA-GLOBULINORACHIES :

Pour les protéinorachies supérieures à 60 ou 100 mg de protéines les dosages de γ globulines montrent toujours une très forte élévation .

Les auteurs ont surtout étudié les liquides contenant moins de 60 mg de protéines .

- AFFECTIONS où les TAUX DE GAMMAGLOBULINES du LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN sont très élevés , de façon quasi constante (plus que ne le laisseraient supposer les réactions de floculation) (Bauer , Volk , Kabat , Freedman):

- Syphilis neuro-méningée : les taux de globuline gamma et la valeur du rapport $\frac{\gamma \text{ globulines}}{\text{Protéines totales}}$ atteint jusqu'à 5 fois la normale en particulier dans la paralysie générale, ou 2 fois le taux normal dans le Tabès .

- Sclérose en plaques : Alors que le sérum est habituellement normal ou contient seulement un taux légèrement élevé d' α et de β globulines, il existe une augmentation des gammaglobulines dans plus de 85 ou 90 % des cas (Saifer - Kabat).

Les gammaglobulines sont en corrélation avec les poussées évolutives mais moins que la réaction cellulaire . Les taux baissent rapidement après corticothérapie (Kabat) .

Le taux des gammaglobulines a également été trouvé élevé dans la neuromyélite optique aigüe .

Enfin parmi les myélites d'origine indéterminée une partie seulement a un pourcentage élevé de gammaglobulines dans le Liquide céphalo-rachidien .

Le taux des gammaglobulines du Liquide céphalo-rachidien est élevé de façon variable au cours de diverses encéphalites.

- Leucoencéphalite sclérosante subaiguë (Van Sande)
- Pan-encéphalite de PETTE DÖRING (Bauer)
- Encéphalite de la varicelle (Kabat) des oreillons (Wallenius)
- Méningo-encéphalite de la mononucléose infectieuse (Burtin).

Certaines affections mentales s'accompagnent d'une discrète hypergammaglobulinorachie (Delay) :

- Confusions mentales d'origine toxi-infectieuse
- Psychoses délirantes chroniques
- Poussées des états démentiels .

Mais on a aussi trouvé cette anomalie au cours de diverses affections vasculaires (Kabat) :

- Périartérite noueuse
- Syndrôme de Raynaud
- Maladie de Buerger
- Thrombose artérielle cérébrale

- Par CONTRE les GAMMA-GLOBULINES du L.C.R. sont NORMALES :

ou de pourcentage diminué dans :

- La schizophrénie et la psychose maniaco-dépressive (Delay)
- La polyomiélite au stade des séquelles
- Les affections dégénérétives : Sclérose latérale Syringomyélie, Maladie de Friedreich .
- La sclérose combinée neuro-anémique
- La maladie de Schilder

VOLK, SAIFER et Coll. ont ainsi proposé l'établissement d'un " profil protidique" au cours des affections neuropsychiatriques : ils pensent que les informations ainsi groupées ont une valeur diagnostique et physiopathologique considérable .

- HYPOTHESES PHYSIOPATHOLOGIQUES CONCERNANT CERTAINES HYPERGAMMA-GLOBULINORACHIES :

- Origine des Gammaglobulines

On sait que les gammaglobulines sont synthétisées par des éléments d'origine mésenchymateuse ; il semble que les plasmocytes soient la forme la mieux différenciée dans ce sens parmi les cellules du tissu réticulo-endothélial .

Récemment, MILLER et BALE ont montré ,en utilisant la Lysine marquée par le C 14, les conditions de synthèse des diverses classes de protéines par le foie et les tissus extra-hépatiques isolés du rat .

- Le foie synthétise l'albumine et la majeure partie des α - β globulines .
- Les tissus extra-hépatiques apportent au sérum les γ globulines et une très faible proportion d' α et de β globulines .

La dissociation si frappante entre les élévations des gammaglobulines du Liquide céphalo-rachidien et l'absence d'augmentation de cette fraction au cours d'affections comme la Sclérose en plaques a fait envisager la possibilité d'une synthèse locale des gammaglobulines par les éléments mésenchymateux du système méningé .

BING (1942) comparant les élévations des globulines du Liquide céphalo-rachidien et l'anatomie pathologique des différentes affections où elle s'observe constate un parallélisme entre l'infiltration lymphoplasmocytouse périvasculaire cérébroméningée et l'augmentation des globulines. Il pense que les plasmocytes secrètent seuls les gammaglobulines puisque en cas d'infiltrats lymphocytaires purs il n'y a pratiquement pas d'augmentation des globulines .

FIELD (1954) a montré qu'au cours des affections inflammatoires chroniques du système nerveux central , le rapport $\frac{\gamma \text{ globuline}}{\text{albumine}}$ est plus élevé dans le Liquide céphalo-rachidien que dans le sérum et qu'il varie plus dans le Liquide céphalo-rachidien que le rapport $\frac{\alpha + \beta \text{ globulines}}{\text{Albumine}}$

Il admet que ce fait suppose une synthèse partielle des gammaglobulines dans le système neuro-méningé .

- Signification de l'élévation des gammaglobulines du Liquide céphalo - rachidien .

Kabat a montré qu'au cours de l'encéphalomyélite aigüe expérimentale obtenue par injection d'extraits de substance blanche cérébrale ou médullaire associée à des adjuvants , on obtenait une augmentation sélective des gammaglobulines du Liquide céphalo-rachidien .

Il pense que ce fait confirme la possibilité d'une iso-immunisation contre le tissu du système nerveux central .

Il rapproche cette affection

- de l'encéphalomyélite , observée après la vaccination antirabique (qui comporte l'injection de préparations plus ou moins anciennes de moëlle infectée par le virus rabique) ,

- des différentes leucoencéphalites où s'observe l'hypergammaglobulinorachie .

GLYCOPROTEINES

Les glycoprotéines sont des hétéroprotéines qui contiennent , liés à la molécule protidique, des polysaccharides.

Glycoprotéines sériques

- CLASSIFICATION :

- La classification actuelle ne repose pas seulement sur la mobilité électrophorétique : on distingue également les glycoprotéines en fonction de leur comportement au contact de divers réactifs .

- Certaines glycoprotéines ne sont pas précipitées par l'acide perchlorique ; ce sont les mucoprotéines qui peuvent être précipitées par l'acide phosphotungtsique ; elles sont riches en glucose, galactose et glucosamine . Le séromucoïde α_1 est le représentant principal de ce type de protéines .

- Les glycoprotéines précipitées par l'acide perchlorique contiennent l(haptoglobine ou sérumcoïde α_2
On peut soit doser les glucides du précipitat, soit directement apprécier l'index d'haptoglobine que mesure l'activité peroxydasique du complexe haptoglobine-Hémoglobine .

- Certaines glycoprotéines α_1 riches en polysaccharides sont spécifiquement précipitées par les détergents cationiques (Bromure de Cétyl-triméthyl-Ammonium) ce qui permet de les doser facilement .

- Enfin, il existe une α_2 glycoprotéine précipitée par la résorcine : la résorcidine : la réaction de Vernes équivaut au dosage de cette protéine .

- ORIGINE et SIGNIFICATION BIOLOGIQUE :

Le fait que les glycoprotéines sériques augmentent au cours des états inflammatoires alors que les glycoprotéines de la substance fondamentale du tissu conjonctif subissent d'importants remaniements a fait penser que dans divers états pathologiques les glycoprotéines pouvaient provenir de cette substance fondamentale : mais il existe des différences de constitution entre ces diverses glycoprotéines et aucune preuve directe n'a pu être donnée confirmant cette hypothèse .

Nous avons vu par contre que l'étude de la synthèse des protéines à l'aide d'acides aminés marqués par des isotopes radioactifs montre que les α et β globulines sont en majeure partie synthétisées par le foie dans les conditions normales .

Glycoprotéïnes du L.C.R.

- METHODES de PRECIPITATION :

- PRECIPITATION PAR L'ACIDE PERCHLORIQUE

Comme celles du sérum les glycoprotéines du Liquide céphalo-rachidien peuvent être séparées en deux groupes par précipitation par l'acide perchlorique .

ROBOZ, APOSTOZ, LUFT et HESS ont mis au point le dosage des glucides liés aux diverses protéines du liquide céphalo-rachidien (Hexose et Hexosamine) et ont établi les différences avec les données fournies par le sérum . Le tableau suivant donne l'essentiel des quantités en mg d'Hexose pour 100 ml contenues dans les principales fractions protéiques du Liquide céphalo-rachidien .

TABLEAU DES VALEURS DE POLYSACCHARIDES PROTEIQUES

DANS LE LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN ET LE SERUM

MESUREES en mg d'HEXOSE pour 100 ml

(D'après Roboz - très simplifié)

	SERUM	L.C.R.
Hexose protéinique total	137,2 ± 10,5	1,44 ± 0,47
Pourcentage	1,9 %	4,8 %
Hexose des mucoprotéines perchlorosolubles	17,2 ± 3,9	0,53 ± 0,12
Hexose des glycoprotéines précipitées par l'acide perchlorique 70 %	120 ± 8	0,91 ± 0,32
Pourcentage d'hexose des mucoprotéines par rapport aux hexoses protéiniques totaux	12,5 %	36,8 %
Gamma polysaccharides		0,18 mg
Pourcentage de γ polysaccharides par rapport aux γ globulines totales		4,84 %

PRECIPITATION PAR LES DETERGENTS

(ROBOZ et Coll., SAIFER et ZYMARIS)

- Il est possible de précipiter électivement les alphaglobulines à l'aide de détergents (Cétol , Octab.) en présence d'un tampon Collidine .

- On peut mesurer par néphélométrie le précipité obtenu (SAIFER).

- On peut aussi doser les hexoses, l'hexosamine et la tyrosine sur le précipité centrifugé et mesurer alors les α glycoprotéines totales .

REACTION DE VERNES A LA RESORCINE SUR LE LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN

Technique :

On utilise une solution concentrée de Résorcine à 66 % .

A 0,6 ml de Liquide céphalo-rachidien on ajoute 0,8 ml de solution de Resorcine, après agitation douce on mesure rapidement la densité optique obtenue et l'on compare à ce témoin la densité optique qui apparaît au bout d'une heure .

Résultats :

- En l'absence de méningite les chiffres trouvés vont de 0 à 5 et restent toujours inférieurs à 20 .

- Dans les méningites lymphocytaires : le chiffre s'élève à 100 ou 150 en cas de méningite tuberculeuse et reste normal dans les méningites virales .

- Dans les réactions méningées de la syphilis nerveuse, la densité optique peut approcher des chiffres trouvés dans la méningite tuberculeuse .

- Enfin, la réaction est souvent positive dans les tumeurs cérébrales et les hémorragies méningées .

Interprétation :

La résorcine précipite une α glycoprotéine spéciale dont l'identification est encore incomplète.

L'apparition d'une réaction de Vernes positive dans le Liquide céphalo-rachidien traduit donc l'augmentation d'une protéine existant dans le sérum et qui s'élève au cours des états inflammatoires aigüs ou subaigüs .

- PHYSIONOMIE GENERALE des GLYCOPROTÉINES du LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN NORMAL :

Le liquide contient les mêmes types de glycoprotéines que le sérum .

BAUER donne les caractéristiques suivantes qui s'accordent dans l'ensemble avec celles de Roboz :

- Le liquide céphalo-rachidien est plus riche en glycoprotéines et en glucides liés aux protéines .
- Cette différence est due principalement à une très grande proportion de mucoprotéines (deux à trois fois plus) .
- Pour BAUER cependant, ces mucoprotéines du Liquide céphalo-rachidien seraient différentes de celles du sérum, elles sont moins riches en glucose et en glucosamine et elles migrent sur le papier d'électrophorèse entre les α_2 et les β globulines .

- Les GLYCOPROTEINES des L.C.R. PATHOLOGIQUES :

- ELECTROPHORESE

Au cours des méningites l'aspect du glucidogramme du Liquide céphalo-rachidien ressemble à celui de tout sérum au cours des affections inflammatoires (Rossi) .

BAUER montre que, plus généralement, toute affection neuro-méningée à évolution aigüe fait apparaître une forte concentration de glycoprotéines dans la bande des α_1 globulines: il parle " d'augmentation des protéines de phase aigüe " .

- METHODES DE DOSAGE SEPARE DES GLYCOPROTEINES

Au cours des méningites , les polysaccharides liés aux protéines augmentent parallèlement dans le Liquide céphalo-rachidien et le sérum (FERRANTE) .

Au cours des affections proprement cérébrales , les modifications sont beaucoup plus complexes et souvent dissociées des modifications du sérum .

De nombreuses lésions évolutives du parenchyme cérébral s'accompagnent d'une élévation globale des polysaccharides liés aux protéines dans le liquide céphalo-rachidien .

APOSTOL donne les chiffres suivants en mg pour 100 ml :

	Polysaccharides totaux	Protéines totales
Témoins	1,4	52,6
Tumeurs cérébrales	4,3	85,3
Polyradiculonévrites	2,8	133,7
Neurosyphilis	2,2	53,9
Sclérose en plaques	1,8	48,4
Epilepsie symptomatique	1,8	45,2
Epilepsie idiopathique	1,3	42,3

- Ce sont les tumeurs cérébrales qui donnent les chiffres absolus les plus élevés .
- Les Polyradiculonévrites ne s'accompagnent pas d'une élévation de la proportion de polysaccharides dans les protéines .
- Les tumeurs cérébrales, la neurosyphilis, les thromboses cérébrales entraînent une augmentation significative du rapport

$$\frac{\text{Polysaccharides}}{\text{Protéines totales}} .$$

En fait, l'analyse fractionnée montre qu'au cours de ces affections l'élévation de ce rapport n'a pas une signification

- Dans les tumeurs cérébrales malignes il existe une très forte élévation des mucoprotéines du Liquide céphalo-rachidien. Dans certains cas privilégiés (bloquage) APOSTOL a pu montrer que cette élévation était limitée au secteur voisin de la tumeur comme si les mucoprotéines provenaient directement du tissu tumoral .

- Au cours des thromboses cérébrales , l'élévation des glycoprotéines porte également sur les α globulines qui ne sont pas toujours élevées parallèlement dans le sérum (Apostol) (Karcher) .

A l'opposé, au cours de deux affections qui s'accompagnent d'élévation des gamma-globulines dans le Liquide céphalo-rachidien, Sclérose en plaques et Neurosyphilis , l'augmentation des polysaccharides protéiques comprend ,non seulement l'élévation des polysaccharides liés aux gammaglobulines , mais également un enrichissement de ces gamma-globulines en polysaccharides . Ce fait traduit une synthèse active de γ globulines (Weimer) .

CONCLUSION -

- Sur le plan diagnostique , le dosage des mucoprotéines dans le Liquide céphalo-rachidien semble devoir acquérir une grande importance pratique .

- Sur le plan physiopathologique :

  . Certaines glycoprotéines semblent provenir pour une grande part du sérum (au cours des méningites purulentes en particulier) à l'occasion d'une élévation de la perméabilité méningée .

  . Ailleurs les glycoprotéines paraissent pouvoir provenir des lésions parenchymateuses,elles-mêmes. (Tumeur maligne, Thrombose vasculaire).

  . Enfin, au cours des affections avec hypergammaglobulinorachie et de myélinisation, l'élévation des glycoprotéines traduit pour une part une néo formation d'anticorps .

Les LIPOPROTEINES

Les lipoprotéines sont des hétéro-protéines où la molécule protidique est liée à un groupement lipidique qu'elle rend soluble en milieu aqueux et difficilement extractible par les solvants des graisses .

- Les LIPOPROTEINES du SANG :

- Classification :

- Les différentes méthodes de fractionnement donnent des résultats difficilement superposables ; on peut cependant se faire actuellement une notion valable de la distribution et de la composition des différentes lipoprotéines du sérum .

- Il existe 4 groupes de lipoprotéines :

  = La fraction des chylomicrons : leur présence rend le sérum lactescent, elles sont très pauvres en protéines, facilement extraites par l'éther, de très basse densité et migrent à peine sur le papier d'électrophorèse : beaucoup ne les classent pas dans les lipoprotéines .

  = La fraction des β lipoprotéines : leur migration entre les α_2 et les β globulines sur le papier justifie cette dénomination : rappelons que sur gélose elles migrent avec les α_1 globulines; ces lipoprotéines assurent le transport sérique du Carotène .

  Ce sont des protéines de faible densité (inférieure à la densité critique du 1.063 utilisé en ultra-centrifugation).

  Elles sont riches en cholestérol .

  Le test de Kunkel au Phénol et surtout les tests plus récents qui utilisent des polysaccharides sulfatés (Burstein) sont spécifiques de ce groupe .

= La fraction des α -lipoprotéines : elles migrent avec les α_1 globulines sur le papier et en avant de l'albumine sur gélose .

Ce sont des protéines de haute densité (leur densité est comprise entre 1063 et 1,21) .

Elles sont moins riches en lipides que les β lipoprotéines et ont un rapport $\frac{\text{Cholestérol}}{\text{Phospholipides}}$ plus faible que celui trouvé dans les lipoprotéines de faible densité .

= La fraction lipoalbumine souvent masquée par les lipoprotéines en électrophorèse sur papier, est inséparable de l'albumine à l'ultra-centrifugation. Elle serait riche en acide gras libres dont ce serait une forme de transport .

- ORIGINE des LIPOPROTEINES :

Les chylomicrons qui s'observent après ingestion de graisses sont évidemment d'origine alimentaire .

Les autres fractions sont probablement d'origine hépatique (Miller et Bale), pour une forte proportion .

- LIPOPROTEINES du L.C.R. NORMAL :

LIPIDES :

Le tableau suivant groupe les résultats de PLAUT et RUCHY , ceux de LAFONTAINE d'une part et les chiffres indiqués dans le traité classique de M. POLONOWSKY.

	L.C.R. mg pour 100 ml			
	PLAUT	LAFONTAINE	POLONOWSKY	SERUM
Cholestérol	0,06 - 0,22	0,302	0,11	180
Phosphatides		5 mg	1 mg env.	140

On voit que, malgré les écarts dûs aux difficultés des dosages, il apparaît une différence majeure entre les lipides du Liquide céphalo-rachidien et ceux du sérum : les lipides du Liquide céphalo-rachidien, peu abondants, sont proportionnellement beaucoup plus riches en phospholipides que ceux du sérum .

-LIPOPROTEINES

- Dans un liquide " clair comme de l'eau de roche " les lipides ne peuvent exister que sous formes de cénapses lipoprotéiques .

- Quelles sont les possibilités d'études directes de ces composés ?

Electrophorèse: Les travaux de BAUDOIN,LEWIN et HILLION, ceux de SMITH, GERSTL, DAVIS et ORTH, ceux de BAUER enfin donnent des résultats concordants ,que nous avons déjà résumés :

1.- Le caractère essentiel ,en dehors de l'absence de la traînée des chylomicrons proche des gammaglobulines, qui étant bien prévisible est l'absence de toute coloration au niveau de la bande des β lipoprotéines. Le Liquide céphalo-rachidien normal semble ne pas contenir de β lipoprotéine riche en cholestérol .

2.- Par contre, la coloration est constante au niveau des α lipoprotéines.

3.- Il n'y a pas normalement de coloration au niveau des albumines dans le Liquide céphalo-rachidien .

4.- Enfin, il existerait une fraction lipidique dans la protéine rapide qui précède l'albumine .

- L'absence de la β lipoprotéine s'explique probablement par l'importance de son poids moléculaire (1.300.000) largement plus élevé que ceux du fibrinogène (400.000) et des gammaglobulines (150.000) .

- La β lipoprotéine étant beaucoup plus riche en lipides et en cholestérol que l' α - lipoprotéine , c'est son absence qui entraîne le faible rapport $\frac{\text{Cholestérol}}{\text{Phospholipides}}$ qui caractérise le Liquide céphalo-rachidien .

Les possibilités desméthodes de précipitation spécifiques :

Nous avons pensé qu'il était possible d'utiliser pour l'étude du liquide céphalo-rachidien les tests opacimétriques spécifiques des lipoprotéïnes.

La réaction de Kunkel au phénol :

d'abord envisagée nous a paru être criticable à deux points de vue :

1.- Elle n'est pas rigoureusement spécifique = Burstein a montré qu'après relargage des β lipoprotéïnes par ultra-centrifugation, la réaction de Kunkel garde encore des valeurs appréciables.

BADIN et Coll. ont prouvé d'autre part qu'une surcharge en fibrinogène ou en produit de fibrinolyse peut la majorer.

2.- Surtout il s'agit d'une réaction relativement peu sensible comme le montre le tableau suivant groupant des chiffres lus au photomètre de Vernes, la réaction étant faite sur une série de dilution du sérum :

TEST au PHENOL	
SERUM	VERNE
Pur	15
1/5	4
1/10	1
1/20	0

Le test au sulfate de Dextrane :

Le test au phénol de Kunkel n'étant ni assez sensible ni spécifique, nous avons envisagé l'utilisation des polysaccharides sulfatés dont tous les auteurs confirment l'activité spécifique d'insolubilisation pour les β lipoprotéïnes (BERNFELD, BURSTEIN).

La réaction de BURSTEIN au Sulfate de Dextrane peut-être faite dans le sérum de la façon suivante : dans un tube à hémolyse contenant 0,05 ml de sérum on ajoute 0,2 ml d'une solution M de $CaCl_2$ puis 2 ml d'une solution de Sulfate de Dextrane à 44 - 48 de SO_3 pour 100.

On mélange et on lit au photomètre après 30 minutes.

Nous avons apporté un certain nombre de modifications à la technique de Burstein afin de la rendre utilisable pour le faible taux de protéïnes du L.C.R.

1.- Une dialyse contre un tampon véronal n'est avérée nécessaire afin d'obtenir un pH constant et optimum du liquide examiné.

2.- Une première lecture est faite au photomètre de Vernes (écran bleu) après adjonction d'une solution molaire de $MgCl_2$ à une proportion importante de L.C.R. (1 ml)

3.- La dextrarine est ajoutée pure et une deuxième lecture est faite après 30 minutes. Le résultat est donné par la différence entre la 2e et la 1e lecture.

- Réactifs :

1.- Solution tampon pour la dialyse :

- Véronal sodique ..... 1,50 g.
- Véronal Acide ..... 4,50 g.
- Eau distillée ..... 2 litres.

chauffer à 70° pour dissoudre.

2.- "Dextrarine" pure.

3.- Solution molaire de chlorure de magnésium.

- Réalisation de la réaction :

A 1 ml de L.C.R. dialysé 24 heures contre le tampon véronal on ajoute 0,5 ml de solution de chlorure de magnésium : on lit une première densité optique au photomètre (Vernes, Bricq et Constant Ecran bleu n° :5).

On ajoute alors 0,03 ml de Dextrarine pure et après avoir mêlé par retournement on laisse reposer 30 minutes.

Une deuxième lecture est faite dans les mêmes condition

L'élévation de l'opacité de la solution donne un indice de la concentration ou β lipoprotéïnes du L.C.R. : la réaction positive est d'ailleurs généralement appréciable à la simple comparaison des liquides.

- Résultats :

Nous verrons que de nombreux L.C.R. pathologiques ne donnent aucune opacité spécifique des β lipoprotéïnes.

Nous avons étudié un seul L.C.R. normal : il s'agissait d'un jeune malade du service de notre maitre le Dr LAPORTE, indemne de toute affection neurologique mais porteur d'une xanthomatose familiale avec nombreuses tumeurs sous-cutanées caractéristiques.

Son sérum avait les caractères suivants :

- clair,
- lipides totaux oscillant entre 16 et 20 g.
- cholestérol entre 7 et 10 g.
- réaction de Burstein 342 Unités Vernes.
- Lipidogramme : augmentation considérable des β lipoprotéïnes, diminution des α lipoprotéïnes.

La réaction au sulfate de Dextrane sur son L.C.R. n'a donné lieu à aucune opacité appréciable : la barrière hémo-cérébrale normale constitue un obstacle remarquablement efficace contre l'envahissement du L.C.R. par les β lipoprotéïnes.

Nous avons enfin vérifié qu'aux dilutions de sérum normal donnant une concentration protéïque analogue à celle du L.C.R., la réaction de Burstein adaptée au L.C.R. donnait encore une opacité appréciable.

Le tableau suivant donne en unités Vernes les résultats obtenus sur quelques sérums : la simple inspection révélait indiscutablement une opacité spécifique ;

TEST au SULFATE de DEXTRANE
sur le SERUM DILUE au 1/200

	Dilution dialysée + solution de Cl_2Mg	id + dextnarine	Résultats
Sérums dont les lipides sont subnormaux.	12	21	9
	13	20	7
	12	22	10
	8	15	7
	9	16	7
Athéromateux	13	28	15
	14	30	16
Xanthomatose	15	43	28

Le test au sulfate de Dextrane est donc utilisable pour les taux de protéïne observées dans le L.C.R.

- Le LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN PATHOLOGIQUE :

LIPIDES et CHOLESTEROL :

- PLANT et RUDY avaient déjà montré que le taux du cholestérol dans le liquide céphalo-rachidien pouvait s'élever alors qu'il restait bas dans le sérum.

- DELAFONTAINE a précisé les aspects de ces hyperliporachies :

  - Le cholestérol :

    - Peut atteindre 1 ou 2 mg % dans les scléroses en plaques et dans certaines tumeurs cérébrales.
    - Reste entre 0,50 et 1 mg % dans la syphylis nerveuse.
    - Atteint jusqu'à 3 mg au cours des méningites.

  - Les phospholipides :

    - s'élèvent particulièrement au cours de la sclérose en plaques (jusque 30 mg %) les taux les plus élevés sont retrouvés au cours des poussées.
    - Restent autour de 15 mg. dans la sclérose latérale amyotrophique dans l'hémorragie cérébrale.

  - Les cérébrosides atteignent :

    - 10 mg environ au cours des scléroses en plaques.
    - 30 mg dans un cas de méningite tuberculeuse.

  - Les acides gras sont augmentés dans la sclérose en plaques et les méningites.

LIPOPROTEINES :

- En 1956 SMITH, GERSTL, DAVIS et ORTHL :

  Ont utilisé la technique du lipidogramme pour l'étude des liquides céphalorachidiens pathologiques.

Leur propos était de rechercher une augmentation des lipoprotéïnes dans le liquide céphalorachidien sans augmentation correspondante dans le sérum au cours des affections démyélinisantes

Ils ont trouvé les anomalies suivantes :

1.- Dans quelques liquides il a été trouvé un pic particulier dans l'aire correspondant à l'albumine :

- six fois dans les scléroses en plaques sévères et évolutives.

- sept fois dans les affections suivantes :

  - syphilis nerveux.
  - infarctus cérébral récent.
  - encéphalopathie post-traumatique.
  - encéphalopathie d'origine hépatique.
  - neuropathie diabétique.

- Cette lipoalbumine n'est jamais retrouvée chez le sujet normal ou porteur d'une affection neurologique non en activité.

- Elle n'est retrouvée que 16 fois sur 86 malades étudiées au cours d'une poussée évolutive comportant une démyélinisation.

2.- A côté de cette courbe si particulière comportant un pic supplémentaire au niveau des albumines, l'aspect le plus commun des lipoprotéïnes est une diffusion irrégulière dans les zones des globulines et des albumines de chaque côté du pic normal des α globulines.

3.- Dans certains cas un maximum de coloration étant observé dans le domaine des β globuline en particulier lorsqu'il existait une réaction cellulaire dans le L.C.R.

Ainsi Smith et ses collaborateurs établissent l'existence de deux types d'anomalie des lipides du liquide encéphalo-rachidien :

- l'apparition d'une lipoalbumine correspondant aux lésions évolutives de la substance blanche.
- l'apparition d'une β lipoprotéïne particulière aux syndromes méningés.

Les circonstances où l'on retrouve cette β lipoprotéïne ont été soigneusement étudiées par :

- BÄUER (1956) :

Il a réalisé un lipidogramme par coloration au noir SOUDANB sur le papier d'électrophorèse de 100 liquides céphalo-rachidiens : dans 16 cas seulement il a trouvé une bande nette de β lipoprotéïne : or des liquides provenant tous de malades porteurs d'une lésion neuro-méningée sévère et évolutive.

Il s'agissait :

- dans 9 cas de tumeur cérébrale.
- dans 3 cas de méningite.
- dans 1 cas d'une hémorragie méningée sous-arachnoïdienne récente.
- dans 3 cas de syndrome neurologique grave et étiologie non certaine mais dont deux étaient probablement néoplasiques.

La présence de cette bande de β lipides ne dépend pas simplement de la protéïnorachie globale : dans 10 cas où cette teneur était extrêmement élevée 7 n'avaient aucune bande de β lipoprotéïne et 3 une très faible, nettement moins intense que la bande des α lipoprotéïnes.

Les autres protéïnes étaient normales à l'électrophorèse dans 9 cas sur 16, montraient une augmentation des globulines dans un cas, des gamma globulines dans 3 cas, des globulines β dans 3 cas seulement.

Enfin dans de nombreuses tumeurs cette bande de lipoprotéïne est absente. Mais dans un cas (spongioblastome) cette lipoprotéïne a été trouvée alors que tous les autres examens de laboratoire étaient normaux.

Les conclusions de BAUER sont les suivantes :

1.- La présence dans le liquide céphalo-rachidien d'une β lipoprotéïne traduit toujours l'existence d'un processus organique évolutif.

2.- Dans certains cas elle ajoute peu aux renseignements fournis par les examens classiques :

- méningites : signalons cependant que Baudoin et Coll. d'une part, Rossi d'autre part ont constaté l'apparition de la β lipoprotéïne dans les méningites tuberculeuses de façon d'autant plus intense qu'il s'agissait d'une forme grave.

- Hémorragies méningées récentes dont le liquide est hématique ou xanthochronique.

3.- En dehors de ces cas la bêta-lipoprotéïnorachie est un symptôme de grande valeur bien qu'inconstant en faveur d'un processus expansif intracrânien : le type de tumeur provoquant cette anomalie n'est d'ailleurs pas précisé.

- Le TEST au SULFATE de DEXTRANE dans le L.C.R. au COURS de DIVERSES AFFECTIONS NEURO-MENINGEES :

Nous avons réalisé cette réaction sur des liquides provenant des services du Docteur Th. ALAJOUANINE, du Docteur LAPORTE et du Docteur GAULTIER.

Le dosage des protéïnes totales a été effectué par la méthodes de Sicard et Cambaloube : nous avons vu que cette technique n'est pas suffisamment exacte pour permettre l'établissement de rapport précis entre telle classe de protéïne et le taux de protéïnes totales.

Nous avons groupé ces premiers résultats en deux tableaux, distinguant les cas où un trouble a été observé après addition du sulfate de dextrane des cas ou la réaction a été négative.

(Page 93 et 94)

RESULTATS du TEST au SULFATE de DEXTRANE sur le L.C.R.

Réactions positives

NOM du MALADE	DIAGNOSTIC	TAUX d'ALBUMINE (Sicard et Cantaloube) g/l	LIQUIDE DIALYSE + Cl_2Mg (1)	DEXTRARINE (2)	RESULTATS (2-1) U.Vernes
Ost...	Méningite à pneumocoque	0,50	12	22	20
Ch...	Méningite à pneumocoque	1,80	17	49	32
De...	Méningite tuberculeuse	0,45	16	25	9
Moh...	Méningite tuberculeuse	0,71	15	23	8
Vig...	Hématome sous-dural chronique	2	19	44	25

Bra...	Compression médullaire	0,45	18	24	8
Lick...	Tabès évolutif (début du trait.)	0,30	11	20	9

TEST au SULFATE de DEXTRANE SUR LE L.C.R.

(Liquides n'ayant donné aucune opacité appréciable)

NOM du MALADE	DIAGNOSTIC	TAUX d'ALBUMINE (Sicard) g/l	LIQUIDE DIALYSE + Cl_2Mg	DEXTRARINE	RESULTATS U. Vernes
Le...	Contrôle	0,25	11	11	0
Cen...	Contrôle	0,25	11	13	2
Che...	Debile	0,22	10	10	0
Bro...	Méningo-encéphalite (varicelle)	0,30	12	12	0
Bar...	Algie cervico-brachiale	0,30	12	14	2
Dan...	Sclérose combinée	0,25	28	28	0

Ba...	Syndrome de Guillain Barré	0,50	13	13	0
Dar...	Comitialité kryptogénétique	0,25	13	13	0
Mi...	Comitialité kryptogénétique	0,30	12	13,5	1,5
Van Cr...	Syndrome subjectif post-traumatique.	0,20	12	13	1
Pe...	Neuropathie diabétique	0,35	13	13	0
Co...	Intoxication	0,15	10	10	0
Chau...	Monoplégie crurale (vasculaire)	0,22	12	12	0
Ant...	Syndrome subject. trauma-crânien	0,22	12	13	1
Da...	Intoxic. par CO	0,30	52	54	2
Bo...	Tumeur hypophys. probable	0,45	15	16	1

Un certain nombre de notions peuvent être dégagées de l'étude de cette courte série :

1.- Les LIQUIDES CEPHALO-RACHIDIENS NORMAUX :

Ne présentent aucun trouble après adjonction du sulfate de Dextrane (0 à 2 Unités Vernes) : leur teneur en β lipoprotéïne est très faible et peut-être nulle.

2.- Au COURS des MENINGITES à GERMES FIGURES (Pneumocoque, Bacille de Kock) il apparaît une opacité modérée qui ne paraît pas proportionnelle au taux de protéïnes totales. La réaction a été négative au cours d'une méningo-encéphalite de la varicelle.

3.- DANS une COMPRESSION MEDULLAIRE TUMORALE le sulfate de dextrane a révélé la présence de β lipoprotéïne dans le liquide sous-jacent à la compression.

4.- RAPPORT avec le TAUX des PROTEINES TOTALES :

La réaction au sulfate de dextrane sur le L.C.R. donne des résultats qui ne sont pas simplement en liaison avec le taux de protéïnes totales :

- trois liquides dont le taux d'albumine étaient élevés (dont un syndrome de Guillain Barré) ne donnaient aucune différence d'opacité après d'addition du réactif.

- dans un liquide prélevé chez un tabétique récent le test au sulfate de dextrane était positif alors que le taux d'albumine était subnormal.

- Parmi les liquides dont le taux d'albumine est élevé on observe certaines variations dans la proportion de lipoprotéïne :

  . 25 unités Vernes pour 2 g. d'albumine au cours d'un hématome sous-dural chronique.

  . 32 unités Vernes pour 1 g 80 d'albumines au cours d'une méningite à pneumocoque.

- CONCLUSION SUR les LIPOPROTEINES du L.C.R.

Il semble que l'on puisse envisager deux sources à l'augmentation des lipoprotéïnes dans le L.C.R.

- Les lipoprotéïnes peuvent avoir pour origine une lésion de la myéline : cette anomalie est difficile à étudier cliniquement :

  . Elle peut se révéler par le dosage des phospholipides réalisé par Delafontaine.

  . Elle pourrait être étudiée par la détection de lipides transportés par l'albumine vraie du L.C.R. (Smith).

- Le plus souvent les lipoprotéïnes proviennent du sérum sous la forme de β lipoprotéïne, riche en cholestérol, normalement absente du L.C.R. et décelable à l'état pathol. par l'électrophorèse sur papier ou plus simplement par le test au sulfate de Dextrane.

Cette protéïne apparaît dans le L.C.R. au cours des syndromes méningés dont on sait qu'ils s'accompagnent d'une augmentation de perméabilité de la barrière hémo-liquidienne.

La présence de β lipoprotéïne dans le L.C.R., dans certaines affections tumorales du système nerveuxcentral n'est sans doute pas liée à l'existence du syndrome de compression : on sait que nombre de tumeurs, au système vasculaire dédifférencié, ont une perméabilité très anormale à l'albumine marquée radioactive (BAKAY) : la perméabilité à la β lipoprotéïne peut-être ou phénoméne analogue.

Les PROTEINES et la BARRIERE HEMO-CEREBRALE

- SERUM et L.C.R.

Il nous a semblé utile de confronter les concentrations relatives des diverses protéïnes que nous venons d'étudier dans la sang et le L.C.R., avec leur poids et leur forme moléculaire.(p. 98)

Du tableau ainsi constitué, il se dégage une notion qui nous paraît avoir une certaine importance physiopathologique : le L.C.R. contient une proportion relative de chaque protéïne d'autant plus élevée que le poids moléculaire de cette protéïne est plus faible.

Cette fonction sélective paraît particulièrement nette au niveau des plexus choroïdes si l'on se souvient de la forte concentration en préalbumine dans le liquide ventriculaire.

La filtration de protéïnes analogue à celle actuellement établie dans la physiologique du glomérule rénal, peut sans doute être étudiée quantitativement à l'état normal et à l'état pathologique.

La concentration du liquide ventriculaire en molécules de faible poids moléculaire a peut-être une importance osmotique suffisante pour influer sur la circulation du L.C.R.

Les deux protéïnes absentes du L.C.R. (fibrinogène et β lipoprotéïne) y apparaissent à l'état pathologique en fonction de l'augmentation de la barrière hémo-liquidienne.

POIDS et FORMES MOLECULAIRES des FRACTIONS ETUDIEES

D'après M.F. J A Y L E

NOM de la PROTEINE SERIQUE	pHi	POIDS et FORME MOLECULAIRES	POURCENTAGE des PROTEINES TOTALES dans le SERUM	L. C. R.
β LIPOPROTEINE		1300.000 sphérique 185 Å	5 %	Absente ou très peu abondante dans le L.C.R. normal
FIBRINOGENE	5,5	500.000 500 à 1000 sur 38 Å	5 %	Absente du L.C.R. normal
α LIPOPROTEINE		200.000 ellipsoïde 20/300 Å	3 %	Présente
GLYCOPROTEINE α_2 (HAPTOGLOBINE)	4	170.000 (forme habituelle)	1 %	
GAMMA GLOBULINE	7,35	150.000	16 %	8 %

		certains polymères atteignent 1 M		
ALBUMINE	5,35	66,000 sphérique Diamètre 36 Å	53 %	51 %
SEROMUCOIDE α_1 (PERCHLOROSOLUBLE)	2,7	44,000	0,5 %	Proportion 3 ou 5 fois plus forte que dans le sérum
PREALBUMINE		20 à 30,000	Traces	Proportion très importante en particulier dans le liquide ventriculaire. (15,4)
			Soit au total 82,5 % des protéines sériques	

- AUTRES SOURCES POSSIBLES de PROTEÏNES :

- LES FORMATIONS MESENCHYMATEUSES NEUROMENINGEES :

Nous avons vu qu'il existe des arguments en faveur et la synthèse in situ de certaines gamma globulines du L.C.R.

Cette notion devra être précisée en fonction de la possibilité d'hypergamma globulinorachie en rapport avec une augmentation de la perméabilité méningée.

- LE PARENCHYME CEREBRAL :

Trois modifications protéïques ont été attribuée aux modifications pathologiques du parenchyme :

- l'apparition d'une lipoalbumine dans le L.C.R. au cours de états de démyélinisation (Smith).
- l'augmentation des mucoprotéïnes du L.C.R. dans diverses tumeurs.
- l'augmentation des α glycoprotéïnes au cours des syndromes vasculaires (KARCHER)

Ces hypothèses devront être étudiées à l'aide de comparaison des concentrations relatives sériques en cause et d'une étude qualitative de ces protéïnes.

Dans cette perspective nous présentons une récapitulation des diverses réactions utilisables pour l'établissement du profil protidique du L.C.R. et les quantités de liquide qu'elles exigent.

PROTIDES TOTAUX :

- 1 ml par la technique au Biuret.
- 2 ml par néphélométrie après précipitation trichloracétique.

GLYCOPROTEINES :

- Réaction de Vernes à la résorcine :

0,6 ml

- Dosage des hexoses :
  - des glycoprotéïnes.
  - des glycoprotéïnes précipitées par les détergeants.
  - des mucoprotéïnes perchlorosolubles.

5 ml	(ROBOZ et HESS)

- Dosage des α globuline du L.C.R. selon SAIBER (détergeants).

0,5 ml	(néphélométrie)

LIPOPROTEINE β précipitée par le sulfate de Dextrane

1 ml

GAMMA GLOBULINES

- méthode immunologique selon BURTIN

0,25 ml

- méthode de précipitation par le cholestérol - ac. désoxycholique.

2 ml	(SAIFER)

BIBLIOGRAPHIE

ANTONACI B.L. et MACAGNINO G.

A gamma globulinémie et A gamma globulinorachie chez un sujet atteint d'encéphalite aigüe

Presse Médicale 1958 - 66 - 374

BERGOUIGNAN M. et LOISEAU P.

Sclérose en plaques (1957)

Enc. Med. Chir. Neurol. II

BING J. and NEEL A.V.

On the site of production of pathologically increased globulin and Elucidited Conditions in Cerebrospinal fluid

Acta Med. Scand. 1942 - 111 - 57

BURTIN P., POCIDALO J.J.

Etude quantitative des gamma-globulines dans le liquide céphalo-rachidien par une méthode immuno-chimique

Presse Med. 1954 - 62 - 1072

DELAY J., MOLLARET P., BURTIN P. et LEMPERIERE T.

Dosage immuno-chimique des gamma-globulines du liquide céphalo-rachidien dans les maladies mentales.

Ann. Med. Psychol. 1956 - 114 - 834

DILLENBERG S.M.

A Comparaison of the spinal fluid in active and inactive cases of multiple sclerosis

Bull. Neurol.Inst. of N.Y. 1938 - 7 - 190

VOLK B.W., SAIFER A. and RABINER A.M.

Protein fractions in serum and cerebrospinal fluid in multiple sclerosis

Ann. N.Y. Acad. Sc. 1954 - 58 - 541

VOLK B.W., SAIFER A., RABINER A.M. and ORESKES I.

Protein profile in multiple sclerosis

A.M.A. Arch. of Neur. and Psych. 1955 - 73 - 66

VOLK B.W., SAIFER A., RABINER A.M., HINTERBÜCHNER L.P.

The "protein profile" in disorders of the central nervous System

A.M.A. Arch. Neur. Psych. 1956 - 75 - 472

YAHRD M.D., GOLDENSOHN S.S., KABAT E.A.

Further Studies on the gamma-globulin content of cerebrospinal fluid in multiple sclerosis and other Neurological diseases.

Ann. N.Y.Acad.Scie. 1954 - 58 - 613

BIBLIOGRAPHIE

APOSTOL R.R., ROBOZ E., HESS W.C. and FORSTER F.M.

Changes in the glycoproteins of the cerebrospinal fluid in neurological diseases

Neurology 1956 - 6 - 859

BAUDOIN A., LEWIN J. et HILLION P.

Electrophorèse sur le papier du liquide céphalo-rachidien :

Etude des glycoproteines

Compte-rendu des Séances de la Soc.Biol.1954 - 148-1033

HAAG W.

Réaction à la Résorcine, relation avec les α globulines et utilité clinique

in Protides of the biological fluids

Elsevier Pub.C°, AMSTERDAM 1958

JAYLE M.F. et BOUSSIER G.

Les seromucoïdes du sang. Leurs relations avec les mucoproteines de la substance fondamentale du tissu conjonctif.

Exp. Ann. Bioch. Med. 1955 - 17 - 157

MASSON, Ed., PARIS.

MARTIN J. et BADIN J.

Etude préliminaire d'une méthode d'estimation turbidimétrique des seromucoïdes sanguins

Ann. Biol. Clin. 1957 - N°10

MENINI, FALMOLT W. and LOUS P.

Seromucoïd and Protein Bound Hexoses in serum

Acta Med. Scand. 1958 - 160 - 315

MURPHY J.

A method for the determination of small quantities of polysaccharides in the cerebrospinal fluid

Master's thesis - Department of Biological Chemistry

Georgetown Univ. Med. School, 1955

ROBOZ E., HESS W.C. and FORSTER F.M.

Determinations of serum proteins and polysaccharides Comparaison of neoplastic diseases particulary of the Central Nervous System

A.M.A. Arch. Neurol. Psychiat.1955 - 73 - 536

ROBOZ E., MURPHY J.B., HESS W.C. and FORSTER F.M.

Isolation and Determination of the glycoprotein in cerebrospinal fluid

Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 1955 - 89 - 691

ROBOZ E., APOSTOL R.R., LUFT A.M. and HESS W.C.

Determination of the carbohy drates in the glycoproteins and mucoproteins of cerebrospinal fluid.

J.Lab. Clin. Med. 1957 - 49 - 796

SAIFER A., ZYMARIS M.

The quantitative Nephelometric Microdetermination of α globulins in serum and cerebrospinal fluid

Clinical Chemist. 1956 - 2 - 195

SAIFER A., ARONSON S., ZYMARIS M.C. and VOLK B.W.

Serial biochemistry of serum and cerebrospinal fluid in amaurotic Family Idiocy (Tay.Sach'sdisease)

Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.1956-91-394

STARY Z., BODUR H., LISIE S.G.

Über den Kohlen hydratgehalt der liquor protein

Klin Wchnschr.1953 - 31 - 339

WEIMER M.F., MOSHIN J.R. and NELSON E.L.

Comparative effects of infection and of immunisation on serum glycoprotein concentrations.

J. Immunolog. 1955 - 74 - 243

BIBLIOGRAPHIE

BAUDOIN A., LEWIN J. et HILLION P.

Electrophorèse des proteines du liquide céphalo-rachidien. Etude des lipoproteines.

Compte-rendu Soc. Biol. 1953 - 147 - 1036

BAUDOIN A., LEWIN J. et HILLION P.

Les lipoproteines du Liquide céphalo-rachidien : composante lipoproteique de la fraction rapide X, proteine rapide du plasma

1955 - 149 - 1093

BADIN J. et SCHMITT F.

Estimation turbidimétrique de la beta-lipoproteine par la méthode de BURSTEIN. Spécificité de cette méthode

Ann. Biol. Clinique 1957 - N°7

BERNFELD P., BERKOWITZ M.E. and DONAHUE V.M.

A simple nephelometric method for the determination of human serum lipoprotein

J. Clin. Invest. 1957 - 36 - 1363

BURSTEIN M. et SAMAILLE J.

Sur une nouvelle méthode de dosage des β lipo - proteines du Serum

Pathol. et Biol. (Sem. Hop. PARIS) 1958 - 6 - 541

BERTHAUX P.

Hyperlipémies et hypercholesterolémies

Bulletin Médical 1957 - 71 - 333

de GENNES J.L., POLONOVSKI R.

Les lipoproteines sériques

Rev. Franç. d'Etudes Clin. et Biol.
1958 - 3 - 275

KNAUER M., HEIDRICH L.

Spinal fluid Lipid

Zzschr. Ges. Neurol. Psychiat.1931 - 136 - 483

KUMAGAI K., KUROKCHI V. and NISHI M.

On the presence of fatty acids in the spinal fluid of Japanese encephalitis patients

Jap.J.Med.Scienc.Biol.1955 - 8 - 81

LAFONTAINE A.

Les phospholipides humoraux au cours de certaines affections nerveuses

J. Belge Neur. Psych. 1946 - 46 - 344

LAFONTAINE A.

Les lipides du Liquide céphalo-rachidien

J. Belge Neur. Psych. 1947 - 47 - 199

PLAUT F., RUDY H.

Study on the spinal fluid cholesterol content

Ztschr.ges.Neur.u.Psychiatr. 1933 - 146 - 229

POLONOVSKI Michel, BOULANGER P., MARCHEBOEUF M. et ROCHE J.

Biochimie Médicale, MASSON Ed.PARIS, 1952

POLONOVSKI J.

Les lipoproteines sériques

in Exposés annuels de Biochimie médicale

MASSON, Ed. PARIS 1957

ROSSI R.

L'elettrophoresi nello studio delle frazioni proteidie, lipoproteiche, et glycoproteiche del liquor normale ed in corso di meningite tobercolose

Riv. Clin. Pediat. 1955 - 55 - 426

SANDOR

La fiche réticulo-endothéliale

Sem. Hop. PARIS 1954 - 319

SMITH J.K., GERSTL B., DAVIS W.E. and ORTH D.L.

Lipoprotein Pattern of Spinal fluid obtained by paper Electrophoresis

A.M.A. Arch. Neur. Psych. 1956, 76, 608

DIEKHOFF J. and KOCH R.

Présence de lipopolysaccharides dans le liquide céphalo-rachidien normal et pathologique chez l'enfant.

Ann. Paed. 1957 - 188 - 1

CONCLUSIONS

Nous avons envisagé les possibilités d'utilisation clinique des principales méthodes d'étude des protéïnes du liquide céphalo-rachidien.

Les techniques électrophorétiques ne semblent pas pouvoir actuellement sâtisfaire aux nécessités de l'exploration biochimique courante.

Deux types de réactions peuvent fournir des informations utilisables par le clinicien : les tests empiriques de floculation, les réactions quantitatives de précipitation des diverses fractions protéïques.

1.- LES TESTS de FLOCULATION :

Alors que la signification des principales réactions classiques (Benjoin colloïdal, Or colloïdal) paraît assez univoque, certains tests habituellement réservés à l'étude du sérum paraissent devoir acquérir un intérêt particulier dans l'étude du liquide céphalo-rachidien.

Nous avons ainsi envisagé les résultats du test au Rouge colloïdal :

- La positivité franche de cette épreuve paraît traduire l'évolution d'une lésion neurologique récente en particulier au cours de l'épilepsie.

- La réaction au Rouge Colloïdal est sans rapport constant avec le taux de protéïnes, l'existence d'une réaction cellulaire dans le liquide lombaire ou céphalique, la réaction du Benjoin Colloïdal.

2.- METHODES QUANTITATIVES :

Elles doivent être associées à un dosage précis des protéïnes totales du liquide céph o-rachidien.

On connait actuellement des méthodes de dosage :

- des gammaglobulines,
- des glycoprotéïnes (glycoprotéïnes totales, α glycoprotéïnes, mucoprotéïnes, Résorcidine).

Considérant l'intérêt trouvé par divers auteurs à l'étude des lipides du L.C.R. par électrophorèse sur papier dans le pronostic de certaines méningites et le diagnostic de tumeurs du système verseur central, il nous a semblé utile d'adapter à l'exploration de ce liquide la technique de Burstein qui permet de précipiter spécifiquement la β lipoprotéïne par le Sulfate de Dextrane.

Cette réaction ne donne pas la précipitation appréciable dans les liquides normaux même en cas de très forte élévation de la β lipoprotéïne dans le sérum (xanthomatose).

Elle est également negative dans certaines affections comportant une élévation du taux des protides dans le L.C.R.

Le test au Sulfate de Dextrane donne par contre une opacité mesurable au photomètre de Vernes dans divers syndromes méningés, la réaction a été également positive dans un cas de compression médullaire tumorale.

Il est encore impossible de conclure sur la valeur clinique et les conséquences physiopathologiques de ces faits : il semble cependant que la présence en quantité appréciable dans le liquide céphalo-rachidien de la β lipoprotéïne constitue un symptome précis et mésurable de certaines anomalies de la barrière hémoliquidienne.

Le test au sulfate de dextrane devrait donc être compris dans l'établissement du profil protidique du L.C.R., il semble devoir faciliter son interprétation.

VU & PERMIS D'IMPRIMER :

Le RECTEUR de l'ACADEMIE
de PARIS :
J. S A R R A I L H

Le DOYEN de la FACULTE de
MEDECINE de PARIS :
Léon B I N E T

Le PRESIDENT de la THESE :
A L A J O U A N I N E